Научный рецензируемый журнал

ВАВИЛОВСКИЙ ЖУРНАЛ ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ

Основан в 1997 г.
Периодичность 8 выпусков в год

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

Главный редактор
В.К. Шумный – академик РАН, д-р биол. наук, профессор (Россия)

Заместители главного редактора
Н.А. Колчанов – академик РАН, д-р биол. наук, профессор (Россия)
Н.Б. Рубцов – д-р биол. наук, профессор (Россия)
Е.К. Хлесткина – д-р биол. наук, профессор (Россия)

Ответственный секретарь
Г.В. Орлова – канд. биол. наук (Россия)

Редакционный совет

В.С. Баранов – чл.-кор. РАН, д-р мед. наук (Россия)
Л.А. Беспалова – академик РАН, д-р с.-х. наук (Россия)
А. Бёрнер – д-р наук (Германия)
В.М. Говорун – академик РАН, д-р биол. наук (Россия)
И. Гроссе – д-р наук, проф. (Германия)
Г.Л. Дианов – д-р биол. наук, проф. (Великобритания)
Ю.Е. Дуброва – д-р биол. наук, проф. (Великобритания)
И.К. Захаров – д-р биол. наук, проф. (Россия)
И.А. Захаров-Гезехус – чл.-кор. РАН, д-р биол. наук (Россия)
С.Г. Инге-Вечтомов – академик РАН, д-р биол. наук (Россия)
И.Е. Керкис – д-р наук (Бразилия)
А.В. Кильчевский – чл.-кор. НАНБ, д-р биол. наук (Беларусь)
С.В. Костров – чл.-кор. РАН, д-р хим. наук (Россия)
Ж. Ле Гуи – д-р наук (Франция)
Б. Люгтенберг – д-р наук, проф. (Нидерланды)
В.И. Молодин – академик РАН, д-р ист. наук (Россия)
В.П. Пузырев – академик РАН, д-р мед. наук (Россия)
А.Ю. Ржецкий – канд. биол. наук, проф. (США)
И.Б. Рогозин – канд. биол. наук (США)
А.О. Рувинский – д-р биол. наук, проф. (Австралия)
К.Г. Скрябин – академик РАН, д-р биол. наук (Россия)
К.В. Славин – д-р наук, проф. (США)
И.А. Тихонович – академик РАН, д-р биол. наук (Россия)
Л.В. Хотылева – академик НАНБ, д-р биол. наук (Беларусь)
Э.К. Хуснутдинова – д-р биол. наук, проф. (Россия)
М.Ф. Чернов – д-р мед. наук (Япония)
С.В. Шестаков – академик РАН, д-р биол. наук (Россия)
Н.К. Янковский – академик РАН, д-р биол. наук (Россия)

Редакционная коллегия

Т.Г. Амстиславская – д-р биол. наук, доцент (Россия)
Е.Е. Андронов – канд. биол. наук (Россия)
Ю.С. Аульченко – д-р биол. наук (Россия)
Д.А. Афонников – канд. биол. наук, доцент (Россия)
Л.И. Афтанас – академик РАН, д-р мед. наук (Россия)
Е.В. Березиков – канд. биол. наук, проф. (Россия, Нидерланды)
С.А. Боринская – д-р биол. наук (Россия)
П.М. Бородин – д-р биол. наук, проф. (Россия)
М.И. Воевода – академик РАН, д-р мед. наук (Россия)
Т.А. Гавриленко – д-р биол. наук, доцент (Россия)
В.Н. Даниленко – д-р биол. наук, проф. (Россия)
С.А. Демаков – д-р биол. наук (Россия)
Е.А. Долгих – канд. биол. наук (Россия)
Н.Н. Дыгало – чл.-кор. РАН, д-р биол. наук (Россия)
С.Л. Киселев – д-р биол. наук, проф. (Россия)
В.А. Козлов – академик РАН, д-р мед. наук (Россия)
Ю.М. Константинов – д-р биол. наук, проф. (Россия)
А.В. Кочетов – чл.-кор. РАН, д-р биол. наук (Россия)
О. Кребс – д-р биол. наук, проф. (Германия)
И.Н. Лаврик – канд. хим. наук (Германия)
Л.А. Лутова – д-р биол. наук, проф. (Россия)
В.Ю. Макеев – чл.-кор. РАН, д-р физ.-мат. наук (Россия)
М.П. Мошкин – д-р биол. наук, проф. (Россия)
Н.А. Проворов – д-р биол. наук (Россия)
Д.В. Пышный – чл.-кор. РАН, д-р хим. наук (Россия)
А.В. Ратушный – канд. биол. наук (США)
Е.А. Салина – д-р биол. наук, проф. (Россия)
М.Г. Самсонова – д-р биол. наук (Россия)
В.А. Степанов – чл.-кор. РАН, д-р биол. наук (Россия)

Scientific Peer Reviewed Journal

VAVILOV JOURNAL OF GENETICS AND BREEDING

Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii

Founded in 1997
Published 8 times annually

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

Editor-in-Chief

V.K. Shumny, Full Member of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Biology), Russia

Deputy Editor-in-Chief

N.A. Kolchanov, Full Member of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Biology), Russia
N.B. Rubtsov, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia
E.K. Khlestkina, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia

Executive Secretary

G.V. Orlova, Cand. Sci. (Biology), Russia

Editorial council

V.S. Baranov, Corr. Member of the RAS, Dr. Sci. (Medicine), Russia
L.A. Bespalova, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Agricul.), Russia
A. Börner, Dr. Sci., Germany
M.F. Chernov, Dr. Sci. (Medicine), Japan
G.L. Dianov, Professor, Dr. Sci. (Biology), Great Britain
Yu.E. Dubrova, Professor, Dr. Sci. (Biology), Great Britain
V.M. Govorun, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia
J. Le Gouis, Dr. Sci., France
I. Grosse, Professor, Dr. Sci., Germany
S.G. Inge-Vechtomov, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia
I.E. Kerkis, Dr. Sci., Brazil
L.V. Khotyleva, Full Member of the NAS of Belarus, Dr. Sci. (Biology), Belarus
E.K. Khusnutdinova, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia
A.V. Kilchevsky, Corr. Member of the NAS of Belarus, Dr. Sci. (Biology), Belarus
S.V. Kostrov, Corr. Member of the RAS, Dr. Sci. (Chemistry), Russia
B. Lugtenberg, Professor, Dr. Sci., Netherlands
V.I. Molodin, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (History), Russia
V.P. Puzyrev, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Medicine), Russia
I.B. Rogozin, Cand. Sci. (Biology), United States
A.O. Ruvinsky, Professor, Dr. Sci. (Biology), Australia
A.Yu. Rzhetsky, Professor, Cand. Sci. (Biology), United States
S.V. Shestakov, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia
K.G. Skryabin, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia
K.V. Slavin, Professor, Dr. Sci., United States
I.A. Tikhonovich, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia
N.K. Yankovsky, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia
I.K. Zakharov, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia
I.A. Zakharov-Gezekhus, Corr. Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia

Editorial board

D.A. Afonnikov, Associate Professor, Cand. Sci. (Biology), Russia
L.I. Aftanas, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Medicine), Russia
T.G. Amstislavskaya, Associate Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia
E.E. Andronov, Cand. Sci. (Biology), Russia
Yu.S. Aulchenko, Dr. Sci. (Biology), Russia
E.V. Berezikov, Professor, Cand. Sci. (Biology), Russia, Netherlands
S.A. Borinskaya, Dr. Sci. (Biology), Russia
P.M. Borodin, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia
V.N. Danilenko, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia
S.A. Demakov, Dr. Sci. (Biology), Russia
E.A. Dolgikh, Cand. Sci. (Biology), Russia
N.N. Dygalo, Corr. Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia
T.A. Gavrilenko, Associate Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia
S.L. Kiselev, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia
A.V. Kochetov, Corr. Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia
Yu.M. Konstantinov, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia
V.A. Kozlov, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Medicine), Russia
O. Krebs, Professor, Dr. Sci. (Biology), Germany
I.N. Lavrik, Cand. Sci. (Chemistry), Germany
L.A. Lutova, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia
V.Yu. Makeev, Corr. Member of the RAS, Dr. Sci. (Physics and Mathem.), Russia
M.P. Moshkin, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia
N.A. Provorov, Dr. Sci. (Biology), Russia
D.V. Pyshnyi, Corr. Member of the RAS, Dr. Sci. (Chemistry), Russia
A.V. Ratushny, Cand. Sci. (Biology), United States
E.A. Salina, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia
M.G. Samsonova, Dr. Sci. (Biology), Russia
V.A. Stepanov, Corr. Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia
M.I. Voevoda, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Medicine), Russia

ВАВИЛОВСКИЙ ЖУРНАЛ ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ

СОДЕРЖАНИЕ • 2017 • 21 • 2

Таксономия растений

152 ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
Внутривидовая классификация пшеницы твердой: новые ботанические разновидности и формы
О.А. Ляпунова

158 ОБЗОР
Горох абиссинский (*Lathyrus schaeferi* Kosterin nom. nov. pro *Pisum abyssinicum* A. Br.) – проблематичный таксон
О.Э. Костерин

Генофонд и селекция растений

170 ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
Фенотипическое разнообразие местных сортов нута (*Cicer arietinum* L.) из центров происхождения культуры, сохраняемых в коллекции ВИР
М.А. Вишнякова, М.О. Бурляева, С.В. Булынцев, И.В. Сеферова, Е.С. Плеханова, С.В. Нуждин

180 ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
Комплексная оценка сортового фонда айвы (*Cydonia oblonga* Mill.) в условиях Краснодарского края
Т.Г. Причко, Л.Д. Чалая, Н.В. Можар

189 ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
Полиморфизм RAPD- и ISSR-маркеров у зерновых видов амаранта
С.В. Лиманская, Л.А. Мирошниченко, Т.И. Гопций, О.С. Корнеева

198 ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
Изменчивость морфометрических признаков хвои на клоновой плантации плюсовых деревьев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.)
Н.Н. Бессчетнова, В.П. Бессчетнов

207 ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
Создание триплоидных сортов яблони – приоритетное направление в селекции
Е.Н. Седов, Г.А. Седышева, М.А. Макаркина, З.М. Серова

214 ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
Реализация генетического потенциала морозостойкости у гибридов яблони разной плоидности
Н.Г. Красова, З.Е. Ожерельева, А.М. Галашева

Генетика растений

222 ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
Изучение ранних этапов развития колоса со спиральным расположением колосков линий мягкой пшеницы (*T. aestivum* L.) нестандартного морфотипа SCR
О.Б. Добровольская, А.А. Красников, К.И. Попова, П. Мартинек, Н. Ватанабе

227 ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
Полимерное взаимодействие генов *SHY2* и *MSG1*, *NPH4* и *IAR2* при наследовании признаков корневой системы *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.
С.Г. Хаблак

234 ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
Гомеобоксные гены факторов транскрипции WOX в паразитическом растении *Monotropa hypopitys* на стадии цветения
А.В. Щенникова, О.А. Шульга, Е.З. Кочиева, А.В. Белецкий, М.А. Филюшин, Н.В. Равин, К.Г. Скрябин

241 ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
Разработка генетической классификации хромосом *Aegilops columnaris* Zhuk. на основании анализа интрогрессивных линий *Triticum aestivum* × *Ae. columnaris*
А.А. Шишкина, А.Ю. Драгович, А.С. Рубан, С.Н. Сибикеев, А.Е. Дружин, Е.Д. Бадаева

250 ОБЗОР
Гены сельскохозяйственных растений, модифицированные с помощью системы CRISPR/Cas
А.М. Короткова, С.В. Герасимова, В.К. Шумный, Е.К. Хлесткина

Генетика животных

259 ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
Синапсис и рекомбинация аутосом и половых хромосом у двух видов крачек (Sternidae, Charadriiformes, Aves)
А.П. Лисачев, Л.П. Малиновская, А.В. Друзяка, П.М. Бородин, А.А. Торгашева

269 ОБЗОР
Разнообразие и распространение мобильных генетических элементов в геномах морских беспозвоночных
М.В. Пузаков, Л.В. Пузакова, И.К. Захаров

© ИЦиГ СО РАН, 2017
© Вавиловский журнал генетики и селекции, 2017
© Сибирское отделение Российской академии наук, 2017

VAVILOV JOURNAL OF GENETICS AND BREEDING

CONTENTS • 2017 • 21 • 2

Plant taxonomy

152 ORIGINAL ARTICLE
Intraspecific classification of durum wheat: new botanical varieties and forms
O.A. Lyapunova

158 REVIEW
Abyssinian pea (*Lathyrus schaeferi* Kosterin nom. nov. pro *Pisum abyssinicum* A. Br.) is a problematic taxon
O.E. Kosterin

Plant gene pool and breeding

170 ORIGINAL ARTICLE
Phenotypic diversity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) landraces accumulated in the Vavilov collection from the centers of the crop origin
M.A. Vishnyakova, M.O. Burlyaeva, S.V. Bulyntsev, I.V. Seferova, E.S. Plekhanova, S.V. Nuzhdin

180 ORIGINAL ARTICLE
Comprehensive assessment of the varietal fund of quince (*Cydonia oblonga* Mill.) in the conditions of Krasnodar region
T.G. Prichko, L.D. Chalaya, N.V. Mozhar

189 ORIGINAL ARTICLE
Polymorphism of RAPD and ISSR markers in grain amaranth species
S.V. Lymanska, L.A. Miroshnichenko, T.I. Goptsiy, O.S. Korneeva

198 ORIGINAL ARTICLE
Variability of morphometrical characteristics of needles at a clonal plantation of plus trees of scots pine (*Pinus sylvestris* L.)
N.N. Besschetnova, V.P. Besschetnov

207 ORIGINAL ARTICLE
The development of triploid apple cultivars is a priority in breeding
E.N. Sedov, G.A. Sedysheva, M.A. Makarkina, Z.M. Serova

214 ORIGINAL ARTICLE
Realization of the genetic potential of frost hardiness in apple hybrids of different ploidy
N.G. Krasova, Z.E. Ozherelieva, A.M. Galasheva

Plant genetics

222 ORIGINAL ARTICLE
Study on early inflorescence development in bread wheat (*T. aestivum* L.) lines with non-standard SCR-morphotype
O.B. Dobrovolskaya, A.A. Krasnikov, K.I. Popova, P. Martinek, N. Watanabe

227 ORIGINAL ARTICLE
Polymer interaction of the genes *SHY2* and *MSG1*, *NPH4* and *IAR2* in the inheritance of the *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. root system
S.G. Hablak

234 ORIGINAL ARTICLE
Homeobox genes encoding WOX transcription factors in the flowering parasitic plant *Monotropa hypopitys*
A.V. Shchennikova, O.A. Shulga, E.Z. Kochieva, A.V. Beletsky, M.A. Filyushin, N.V. Ravin, K.G. Skryabin

241 ORIGINAL ARTICLE
Development of the genetic classification of *Aegilops columnaris* Zhuk. chromosomes based on the analysis of introgression lines *Triticum aestivum* × *Ae. columnaris*
A.A. Shishkina, A.Yu. Dragovich, A.S. Rouban, S.N. Sibikeev, A.E. Druzhin, E.D. Badaeva

250 REVIEW
Crop genes modified using CRISPR/Cas system
A.M. Korotkova, S.V. Gerasimova, V.K. Shumny, E.K. Khlestkina

Animal genetics

259 ORIGINAL ARTICLE
Synapsis and recombination of autosomes and sex chromosomes in two terns (Sternidae, Charadriiformes, Aves)
A.P. Lisachov, L.P. Malinovskaya, A.V. Druzyaka, P.M. Borodin, A.A. Torgasheva

269 REVIEW
Diversity and distribution of mobile genetic elements in marine invertebrates genomes
M.V. Puzakov, L.V. Puzakova, I.K. Zakharov

© Institute of Cytology and Genetics SB RAS, 2017
© Vavilov Journal of Genetics and Breeding, 2017
© Siberian Branch RAS, 2017

Уважаемые коллеги, дорогие читатели!

В преддверии 130-летия со дня рождения Николая Ивановича Вавилова в течение всего 2017 года пройдут приуроченные к юбилею научные мероприятия. Конференции и семинары состоятся в Санкт-Петербурге и Москве, ряд юбилейных мероприятий запланирован на базе Саратовского государственного аграрного университета им. Н.И. Вавилова, а в Новосибирске в конце марта пройдет третья международная конференция «Генофонд и селекция растений», посвященная этой знаменательной дате.

С темой изучения генофондов растений, использования их в генетических исследованиях и селекции тесно связан и текущий выпуск Вавиловского журнала генетики и селекции. Имя великого ученого повсюду на страницах журнала: авторы цитируют его работы, в его честь назван рассмотренный в одной из статей триплоидный сорт яблони, изучаются образцы различных видов растений из основанной Н.И. Вавиловым коллекции, а сама коллекция пополняется новыми формами и разновидностями.

Открывает номер статья О.А. Ляпуновой (отдел генетических ресурсов пшеницы Федерального исследовательского центра Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург). Итогом многолетнего труда автора стало выявление 10 новых разновидностей и 12 форм пшеницы твердой.

Изменения в таксономической классификации видов растений связаны не только с описанием новых форм, но и с уточнением филогенетических отношений на основе современных методов исследования. Так, результатом работ по молекулярной реконструкции филогении трибы Fabeae стали дополнения в ее таксономии, которые полностью поменяли привычную классификацию. В частности, ветвь *Pisum-Vavilovia* оказалась внутри рода *Lathyrus* L. В обзоре О.Э. Костерина (Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦиГ СО РАН), Новосибирск) в свете этих изменений и с учетом результатов молекулярных исследований рассмотрен проблематичный таксон – горох абиссинский – и предложена новая номенклатура этого вида.

Совместная работа исследователей из Харьковского национального аграрного университета им. В.В. Докучаева и Воронежского государственного университета инженерных технологий позволила с помощью молекулярных методов исследования установить генетическое родство зерновых видов амаранта, подтвердить монофилетическую теорию их происхождения и получить доказательства того, что *Amaranthus mantegazzianus* Passer. является подвидом *A. caudatus* L.

Исследователи из ВИР в соавторстве со своими коллегами из Санкт-Петербургского политехнического университета и Университета Южной Калифорнии представили результаты изучения фенотипического разнообразия местных сортов нута (более 1000 образцов, сохраняемых в коллекции ВИР) из центров происхождения культуры. Выделены образцы – потенциальные доноры хозяйственно ценных признаков.

На основе комплексной оценки сортового фонда айвы в условиях Краснодарского края подобраны потенциальные пары для скрещиваний для селекции сортов, в которых зимостойкость и высокая продуктивность сочетаются с хорошими товарными качествами и ценным химическим составом (работа коллектива из Северо-Кавказского зонального НИИ садоводства и виноградарства, Краснодар).

Созданию и изучению триплоидных сортов яблони посвящены работы двух коллективов из Всероссийского НИИ селекции плодовых культур (ВНИИСПК, Орловская область). Показано, что созданные триплоидные сорта достоверно превосходят широко распространенные диплоидные сорта по массе плодов, содержанию в плодах сахаров и витамина Р, хотя уступают по содержанию аскорбиновой кислоты. Из новых селекционных форм выявлены наиболее зимостойкие.

Анализ изменчивости морфометрических признаков хвои на клоновой плантации плюсовых деревьев сосны обыкновенной, проведенный исследователями из Нижегородской государственной сельскохозяйственной академии, выявил формы, подходящие в качестве родительских форм для гибридной селекции.

В совместной работе ученых ИЦиГ СО РАН с коллегами из Института сельскохозяйственных исследований (Чехия) и Университета Ибараки (Япония) у пшеницы при помощи световой и сканирующей электронной микроскопии впервые установлены особенности развития соцветия растений, мутантных по гену *Scr1*. Эта мутация обеспечивает особенности морфологии колоса, которые при определенных условиях могут быть использованы для повышения продуктивности.

Важным фактором, влияющим на продуктивность растений, является степень развития корневой системы. Особенностям наследования признаков корневой системы модельного растения *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. посвящена работа С.Г. Хаблака из Харьковского национального аграрного университета.

Накопленные в последние годы знания о генах сельскохозяйственных видов растений и структурно-функциональных различиях их аллельных вариантов позволили за короткий срок с момента появления технологии геномного редактирования CRISPR/Cas применить ее для улучшения продуктивности, устойчивости к факторам биотического и абиотического стресса и признаков качества уже более 10 видов растений. С помощью такой технологии улучшенные формы можно создавать в течение двух лет. Систематический обзор публикаций в этой области представлен в статье коллектива из ИЦиГ СО РАН. В большинстве рассмотренных работ получены нетрансгенные растения с заданными мутациями, которые нередко имитируют природные мутации. Во многих странах активно обсуждается вопрос о возможности не приравнивать такие растения к ГМО, что позволило бы использовать эту прорывную технологию на практике.

Академик В.К. Шумный

Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):152-157
DOI 10.18699/VJ17.233

Внутривидовая классификация пшеницы твердой: новые ботанические разновидности и формы

О.А. Ляпунова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова» (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

В соответствии с системой рода *Triticum* L., разработанной в отделе генетических ресурсов пшеницы ВИР, твердая пшеница является самостоятельным видом *Triticum durum* Desf. Внутри вида рассматривают два подвида: subsp. *durum* и subsp. *horanicum*. Подвид собственно твердых пшениц (subsp. *durum*) дифференцирован на шесть групп разновидностей (convar.), в свою очередь convar. *durum* имеет в своем составе три подгруппы разновидностей (subconvar.). Ко времени создания классификации внутри вида *T. durum* Desf. насчитывалась 121 ботаническая разновидность. Они были выделены по сочетанию таких признаков, как «наличие/отсутствие опушения соломины под колосом», «опушенность/неопушенность колосковых чешуй», «шероховатость остей»; по цвету чешуй, остей и зерновок. Принцип выделения основан на сочетании значительного количества признаков, что дает большое число возможных вариантов и увеличивает вероятность нахождения новых разновидностей. Объектом исследований было около 6 000 образцов генетической коллекции твердой пшеницы ВИР, репродуцируемых в различных эколого-географических условиях на протяжении 15 лет. Идентификацию образцов проводили в соответствии с классификацией, которую использует отдел генетических ресурсов пшеницы ВИР в работе с коллекцией. В результате наших полевых исследований на станции Тель Хадия (Сирия) Международного центра сельскохозяйственных исследований в засушливых регионах (ICARDA) и идентификации репродукции образцов, полученных после размножения на опытных станциях ВИР, выявлено 10 новых разновидностей и 12 форм пшеницы твердой, которые дополнили нашу классификацию. Для каждой из них приведен диагноз, определен тип, представлены гербарий (автотип) и фотографии.

Ключевые слова: твердая пшеница (*Triticum durum*); внутривидовая классификация; таксон; ботаническая разновидность; форма ботанической разновидности.

Intraspecific classification of durum wheat: new botanical varieties and forms

O.A. Lyapunova

Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Rassian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St.-Petersburg, Russia

The Wheat Genetic Resources Department of VIR treats *Triticum durum* Desf. as a separate species. It contains 2 subspecies: subsp. *durum* and subsp. *horanicum*. Subsp. *horanicum* Vav. shows the highest spike density. Subsp. *durum* – the durum wheat proper – is characterized by a major variation of spike density, grain size and form. The subspecies also has liguleless forms and those with strongly pubescent leaves. The subsp. *durum* is represented by 6 groups of botanical varieties (convarieties): *durum*, *durocompactum*, *aglossicon*, *villosum*, *falcatum*, and *caucasicum*. Convar. *durum* has three subconvarieties: *durum*, *muticum* and *duroramosum*. At the time of the development of the classification 121 botanical varieties were described within *T. durum*. They were identified by a combination of characteristics such as the presence or absence of pubescent straw under the spike, pubescent or glabrous glumes, the roughness of awns (smooth or rough), glume color (white, red, gray, smoked-grayish or black on white or red background), awn color (same color as that of glumes or black), kernel color (white, red or purple). The principle of selection of botanical varieties is based on the combination of a large number of signs, giving a large number of possible options. It is very likely that most of them are not found in nature, but the probability of finding a new botanical variety or the presence of various forms can be increased as the research of polymorphism in accessions of the durum wheat collection in different ecological and geographical conditions. The objects of research were about 6000 accessions from the VIR durum wheat genetic collection, which had been grown in different ecological and geographical conditions during for 15 years. Identification of the accessions was carried out in accordance with the classification used by the Wheat GR department in its work with the collection. As a result of their own field research in ICARDA (Syria, Tel Hadya) and identification of accessions obtained after reproduction on the VIR experimental station, we have identified 10 new botanical varieties and 12 forms of *T. durum* to supplement the classification. For each of them the diagnosis is given, the type is defined, a herbarium (autotype) and photos are provided.

Key words: durum wheat (*Triticum durum*); intraspecific classification; taxon; botanical varietas; forms of botanical varietas.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:
Ляпунова О.А. Внутривидовая классификация пшеницы твердой: новые ботанические разновидности и формы. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):152-157. DOI 10.18699/VJ17.233

HOW TO CITE THIS ARTICLE:
Lyapunova O.A. Intraspecific classification of durum wheat: new botanical varieties and forms. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(2):152-157. DOI 10.18699/VJ17.233

Received 27.09.2016
Accepted for publication 06.12.2016
© AUTHOR, 2017

e-mail: o.liapounova@vir.nw.ru

Впервые твердую пшеницу как отдельный самостоятельный вид *Triticum durum* описал французский ботаник R.L. Desfontaines, исследуя флору Алжира и Туниса (Desfontaines, 1798). В дальнейшем ее относили к различным таксономическим категориям, преимущественно подвидам (subsp.) мягкой или тургидной пшеницы. По рекомендации таксономической секции 9-го Международного симпозиума по генетике пшеницы (1998 г.) был создан эволюционирующий проект «GrainTax» (США). Система «GrainTax» предлагает on-line источник информации о систематике пшеницы. По ее данным, в настоящее время существует 13 классификаций рода *Triticum* (http://www.k-state.edu).

В наиболее часто используемых современных классификациях твердая пшеница трактуется по-разному: как вид *T. durum* Desf. (Культурная флора СССР, 1979; Гандилян, 1980; Гончаров, 2012) или *T. turgidum* L. (Kimber, Sears, 1987); как подвид *T. turgidum* subsp. *durum* (Desf.) Husnot (van Slageren, 1994) или *Gigachilon polonicum* subsp. *durum* (Desf.) A. Löve (Löve, 1984), как группа разновидностей *T. turgidum* subsp. *turgidum* conv. *durum* (Desf.) MacKey (Mac Key, 1966, 1988).

В отделе генетических ресурсов пшеницы ВИР разработана система рода *Triticum* L., в основе которой учет геномного состава видов и наличие или отсутствие главных генов в доминантном состоянии (Культурная флора СССР, 1979). В данном издании приведена классификация рода, которую в большинстве случаев называют классификацией пшеницы Дорофеева и др. и относят к ряду основных современных классификаций рода *Triticum* L. В соответствии с ней пшеница твердая является видом *T.durum* Desf. и включает в себя два подвида: subsp. *durum* и subsp. *horanicum*. Subsp. *horanicum* Vav. – наиболее плотноколосые пшеницы с комплексом специфических морфологических признаков. Subsp. *durum* – собственно твердые пшеницы – характеризуются большим разнообразием в отношении плотности колоса, формы зерновки и колоса, наличием остей. Некоторым ее формам свойственны отдельные отличительные признаки, которые имеют географическую приуроченность, такие, например, как «безлигульность» или «густое опушение листовой пластинки». Это позволяет выделить у subsp. *durum* группы разновидностей (convar.). Подвид собственно твердых пшениц дифференцирован на шесть групп разновидностей: convar. *durum*, *durocompactum*, *aglossicon*, *villosum*, *falcatum*, *caucasicum*. Convar. *durum* имеет в своем составе три подгруппы разновидностей (subconvar.): *durum*, *muticum*, *duroramosum*.

Разновидность (var.) – таксономическая категория ниже подвида (McNeill et al., 2011). Вид *T. durum* Desf. имеет 121 ботаническую разновидность. Они были выделены по сочетанию таких признаков, как «наличие/отсутствие опушения соломины под колосом», «опушенность/неопушенность колосковых чешуй», «шероховатость остей» (гладкие или шероховатые); по цвету чешуй (белые, красные, серо-дымчатые или черные на белом или красном фоне), по цвету остей (совпадающий с цветом чешуй или черный) и цвету зерновок (белые, красные или фиолетовые). Большой вклад в создание списка значимых для таксономии морфологических признаков принадлежит К.А. Фляксбергеру. В своей монографии по систематике пшеницы (Фляксбергер, 1935) он обобщил результаты изучения большого количества нового материала, собранного экспедициями ВИР в 1920–1930 гг., что позволило существенно расширить число признаков, описывающих разновидность, по сравнению с используемыми ранее (Фляксбергер, 1908). Так, например, появились новые признаки: «безлигульность» (на месте перехода листового влагалища в листовую пластинку отсутствуют лигула и ушки), «выполненная соломина под колосом», «черная на белом фоне окраска колосковой чешуи».

Форма (f.) – таксон рангом ниже разновидности, важный при идентификации образцов коллекции. В используемой нами классификации представлено 29 форм у 20 разновидностей. Они были выделены по таким признакам, как «растение без воскового налета» (epruinos-), «ости слабошероховатые» (fere-), «черная окраска края колосковой чешуи» (nigro-, triste-). Среди последних указано пять форм: f. *nigrapulicum* Dekapr. или f. *tristeapulicum* Gökg., f. *tristeaydiniense* Gökg., f. *tristeleucomelan* Gökg., f. *tristemudanianum* Gökg., f. *variegatum* (Kob.) Dorof. et A. Filat. Все они были найдены в Турции. Еще несколько форм, не включенных в классификацию отдела генетических ресурсов ВИР, были описаны M. Gökgöl (1939, 1941) также по турецким образцам. По всей вероятности, географические условия репродуцирования образцов коллекции твердой пшеницы на территории России не благоприятны для проявления черной окраски края колосковой чешуи.

Классификация Дорофеева и др. достаточно полно отражает внутривидовое разнообразие вида *T. durum* и позволяет проводить идентификацию репродуцированных образцов. Однако недостаточная изученность всего полиморфизма пшеницы не дала возможности описать большое разнообразие форм, выделенных по какому-либо одному признаку. В более ранних систематических описаниях их не относили к таксономическим единицам, а считали определяющими понятиями. В нашей классификации ряд таких понятий был переведен в ранг групп разновидностей (convar.), разновидностей (var.) или форм (f.), но часть понятий, значимых для дифференцированного исследования признаков колоса, отсутствует. К ним можно отнести такие признаки, как «булавовидная» (*capitatum*) и «пирамидальная (*pyramidale*) форма колоса», «укороченные ости» (sub-) или «полное отсутствие остей» (eu-).

Если дифференциация вида *T. durum* на подвиды и группы разновидностей может быть изменена при рассмотрении иного подхода к их выделению, то число разновидностей и форм – величина непостоянная даже в рамках одной классификации. За время после опубликования «Культурной флоры СССР» (1979) был выделен ряд новых разновидностей твердой пшеницы. В основе их выделения лежат новые, ранее не отмеченные признаки, такие, например, как «четырехостый колос» – var. *tetraaristatum* (Kurk.) или «колос с ветвлением по типу *T. vavilovii*» – var. *unicafricanum*, var. *universavianum* (Udach.), var. *unicum* (Lukjan. et Kostin).

Принцип выделения разновидностей, основанный на сочетании значительного количества признаков, дает большое число возможных вариантов. Скорее всего, большая часть из них в природе не встречается, но вероятность

нахождения новых разновидностей или наличие тех или иных форм у выделенных разновидностей может увеличиваться по мере изученности полиморфизма образцов коллекции твердой пшеницы в различных эколого-географических условиях.

Материалы и методы

Объектом исследований было около 6000 образцов генетической коллекции твердой пшеницы ВИР, репродуцируемых в различных эколого-географических условиях на протяжении 15 лет.

Идентификацию образцов проводили в соответствии с классификацией, которую использует отдел генетических ресурсов пшеницы ВИР в своей работе с коллекцией (Дорофеев и др., 1980).

Результаты

При идентификации образцов, репродуцированных на опытных станциях ВИР и выращенных в наших полевых исследованиях, выявлено 10 новых разновидностей пшеницы твердой, дополняющих классификацию, которую использует отдел генетических ресурсов пшеницы в своей работе с коллекцией. Для каждой из них приведен диагноз, определен тип, представлены фотографии. В подвиде собственно твердой пшеницы subsp. *durum* выделены следующие разновидности (varietas):

– *T. durum* Desf. subsp. *durum* convar. *falcatum* (Jakubz.) Dorof. et Filat. var. *falcaterythromelan* Lyapun. var. nov. – A *T. durum* var. *erythromelan* Koern. in Koern. et Wern. caryopsis falcata differt.
Typus: Georgia, South Ossetia, reg. Tshinvali. Reproductio ICARDA, 2001, leg. Lyapunova O.A., k-11496 (VIR). Является аналогом var. *erythromelan* по зерну типа falcatum.

– *T. durum* Desf. subsp. *durum* convar. *falcatum* (Jakubz.) Dorof. et Filat. var. *falcataffine* Lyapun. var. nov. – A *T. durum* var. *affine* Koern. in Koern. et Wern. caryopsis falcata differt.
Typus: Greece, Crete. Reproductio ICARDA, 2001, leg. Lyapunova O.A., k-17762 (VIR). Является аналогом var. *affine* по зерну типа falcatum.

T. durum var. *falcaterythromelan*

T. durum var. *falcataffine*

T. durum var. *falcatiprovinciale*

T. durum var. *falcaticaerulescens*

T. durum var. *falcativalencia*

T. durum var. *caumelanopus*

T. durum var. *muticoleucomelan*

T. durum var. *muticerythromelan*

T. durum var. *muticapulicum*

T. durum var. *horanileucomelan*

T. durum var. *albiprovinciale*
f. *tristealbiprovinciale*

T. durum var. *provinciale*
f. *tristeprovinciale*

T. durum var. *melanopus*
f. *tristemelanopus*

T. durum var. *boeufii*
f. *tristeboeufii*

T. durum
var. *muticerythromelan*
f. *tristemuticerythromelan*

T. durum
var. *muticomelanopus*
f. *tristemuticomelanopus*

T. durum
var. *muticapulicum*
f. *tristemuticapulicum*

T. durum
var. *muticoboeufii*
f. *tristemuticoboeufii*

T. durum var. *pseudoalbiprovinciale*
f. *tristepseudoalbiprovinciale*

T. durum
var. *pseudoprovinciale*
f. *tristepseudoprovinciale*

T. durum
var. *cauleucomelan*
f. *tristecauleucomelan*

T. durum
var. *horanileucomelan*
f. *tristehoranileucomelan*

New botanical varieties and forms of durum wheat (*T. durum* Desf.).

– *T. durum* Desf. subsp. *durum* convar. *falcatum* (Jakubz.) Dorof. et Filat. var. *falcatiprovinciale* Lyapun. var. nov. – A *T. durum* var. *provinciale* (Alef.) Koern. in Koern. et Wern. caryopsis falcata differt.
Typus: Morocco, reg. Marrakesh. Reproductio stations Daghestanskaya fulcracea VIR, 2002, leg. Lyapunova O.A., k-16441 (VIR). Является аналогом var. *provinciale* по зерну типа falcatum.
– *T. durum* Desf. subsp. *durum* convar. *falcatum* (Jakubz.) Dorof. et Filat. var. *falcaticaerulescens* Lyapun. var. nov. – A *T. durum* var. *caerulescens* (Baylet-Barelle) Koern. caryopsis falcata differt.
Typus: Morocco, reg. Marrakesh. Reproductio stations Daghestanskaya fulcracea VIR, 2002, k-16441 (VIR). Является аналогом var. *caerulescens* по зерну типа falcatum.
– *T. durum* Desf. subsp. *durum* convar. *falcatum* (Jakubz.) Dorof. et Filat. var. *falcativalencia* Lyapun. var. nov. – A *T. durum* var. *valenciae* Koern. in Koern. et Wern. caryopsis falcata differt.
Typus: Greece, Crete. Reproductio ICARDA, 2001, leg. Lyapunova O.A., k-17763 (VIR). Является аналогом var. *valenciae* по зерну типа falcatum.
– *T. durum* Desf. subsp. *durum* convar. *caucasicum* (Dorof.) Dorof. var. *caumelanopus* Lyapun. var. nov. – A *T. durum* var. *melanopus* (Alef.) Koern. in Koern. et Wern. spica type caucasicum differt.
Typus: Azerbaijan, reg. Saatli. Reproductio stations Daghestanskaya fulcracea VIR, 2002, leg. Lyapunova O.A., k-46897 (VIR). Является аналогом var. *melanopus* по типу caucasicum.
– *T. durum* Desf. subsp. *durum* convar. *durum* subconvar. *muticum* (Orlov) Dorof. et Filat. var. *muticoleucomelan* Lyapun. var. nov. – A *T. durum* var. *leucomelan* Koern. spica mutica differt.
Typus: France, Montpellier. Reproductio stations Daghestanskaya fulcracea VIR 2002, leg. Lyapunova O.A., k-46744 (VIR). Является безостым аналогом var. *leucomelan*.
– *T. durum* Desf. subsp. *durum* convar. *durum* subconvar. *muticum* (Orlov) Dorof. et Filat. var. *muticerythromelan* Lyapun. var. nov. – A *T. durum* var. *erythromelan* Koern. spica mutica differt.
Typus: France, Montpellier. Reproductio stations Daghestanskaya fulcracea VIR, 2002, leg. Lyapunova O.A., k-46743 (VIR). Является безостым аналогом var. *erythromelan*.
– *T. durum* Desf. subsp. *durum* convar. *durum* subconvar. *muticum* (Orlov) Dorof. et Filat. var. *muticapulicum* Lyapun. var. nov. – A *T. durum* var. *apulicum* Koern. spica mutica differt.
Typus: Australia. Reproductio ICARDA, 2001, leg. Lyapunova O.A., k-16272 (VIR). Является безостым аналогом var. *apulicum*.

В хоранском подвиде пшеницы твердой subsp. *horanicum* (Vav.) Vav. выявлена одна разновидность:

– *T. durum* Desf. subsp. *horanicum* (Vav.) Vav. var. *horanileucomelan* Lyapun. var. nov. – A *T. durum* var. *leucomelan* type horanicum differt.
Typus: Italy, Catania. Reproductio stations Daghestanskaya fulcracea VIR, 2002, leg. Lyapunova O.A., k-44947 (VIR). Является аналогом var. *leucomelan* по типу horanicum.

В результате исследований в регионе с высокой солнечной инсоляцией (Сирия, Тель Хадия), которая способствовала проявлению черной окраски края колосковой чешуи (triste-), выделено 12 новых форм у разновидностей обоих подвидов – subsp. *durum* (convar. *durum* subconvar. *durum* и subconvar. *muticum*, convar. *durocompactum*, convar. *caucasicum*) и subsp. *horanicum*:

– *T. durum* var. *albiprovinciale* f. *tristealbiprovinciale* Lyapun. nov. – albo in combinatio cum nigro gluma color nigro-marginata.
Typus: Portugal, Lizbon. Reproductio ICARDA, 2001, leg. Lyapunova O.A., k-20688 (VIR).
– *T. durum* var. *provinciale* f. *tristeprovinciale* Lyapun. nov. – rufus in combinatio cum nigro gluma color nigro-marginata.
Typus: Australia. Reproductio ICARDA, 2001, leg. Lyapunova O.A., k-17283 (VIR).
– *T. durum* var. *melanopus* f. *tristemelanopus* Lyapun. nov. – albo gluma color cum nigro-marginata.
Typus: Syria, reg. Damascus. Reproductio ICARDA, 2001, leg. Lyapunova O.A., k-17121 (VIR).
– *T. durum* var. *boeufii* f. *tristeboeufii* Lyapun. nov. – albo in combinatio cum nigro gluma color nigro-marginata.
Typus: Cyprus. Reproductio ICARDA, 2000, leg. Lyapunova O.A., k-17846 (VIR).
– *T. durum* var. *muticerythromelan* f. *tristemuticerythromelan* Lyapun. nov. – rufus gluma color nigro-marginata.
Typus: Australia. Reproductio ICARDA, 2001, leg. Lyapunova O.A., k-17283 (VIR).
– *T. durum* var. *muticomelanopus* f. *tristemuticomela-nopus* Lyapun. nov. – albo gluma color cum nigro-marginata.
Typus: Australia. Reproductio ICARDA, 2001, leg. Lyapunova O.A., k-16272 (VIR).
– *T. durum* var. *muticapulicum* f. *tristemuticapulicum* Lyapun. nov. – rufus gluma color nigro-marginata.
Typus: Australia. Reproductio ICARDA, 2001, leg. Lyapunova O.A., k-16272 (VIR).
– *T. durum* var. *muticoboeufii* f. *tristemuticoboeufii* Lyapun. nov. – albo in combinatio cum nigro gluma color nigro-marginata.
Typus: Australia. Reproductio ICARDA, 2001, leg. Lyapunova O.A., k-16272 (VIR).
– *T. durum* var. *pseudoalbiprovinciale* f. *tristepseudoalbiprovinciale* Lyapun. nov. – albo in combinatio cum nigro gluma color nigro-marginata.
Typus: Tunisia. Reproductio ICARDA, 2005, leg. Lyapunova O.A., IG 98085 (ICARDA).
– *T. durum* var. *pseudoprovinciale* f. *tristepseudoprovinciale* Lyapun. nov. – rufus in combinatio cum nigro gluma color nigro-marginata.
Typus: Turkey. Reproductio ICARDA, 2000, leg. Lyapunova O.A., k-29474 (VIR).
– *T. durum* var. *cauleucomelan* f. *tristecauleucomelan* Lyapun. var. nov. – albo gluma color cum nigro-marginata.
Typus: Azerbaijan, reg. Zakatali. Reproductio stations Daghestanskaya fulcracea VIR, 2012, leg. Lyapunova O.A., k-46778 (VIR).
– *T. durum* var. *horanileucomelan* f. *tristehoranileucomelan* Lyapun. nov. – albo gluma color cum nigro-marginata.

Typus: Italy, Catania. Reproductio stations Daghestanskaya fulcracea VIR, 1989, leg. Lyapunova O.A., k-44947(VIR).

Коллекция ВИР насчитывает более 6 тыс. образцов твердой пшеницы из всех регионов происхождения и произрастания культуры. Вид *T. durum* Desf. характеризуется широким внутривидовым разнообразием. Одна из основных задач работы с *ex situ* коллекцией – сохранение подлинности содержащихся в ней образцов. Для идентификации образцов после восстановления всхожести и размножения используют морфологические признаки колоса и зерновки и определяют разновидность образца. Выявленные новые ботанические разновидности позволяют систематизировать образцы, которые принадлежат к одной из них. Это дает возможность контролировать подлинность образца и сохранять идентичность коллекции.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Desfontaines R.L. Flora atlantica: sive historia plantarum quae in Atlante, agro tunetano et algeriensi crescent. Parisiis: L.G. Desgranges, 1798;1:114.

Dorofeev V.F., Filatenko A.A., Migushova E.F. Opredelitel' pshenitsy. Metodicheskie ukazaniya [Identification guide to wheats: Guidelines]. Ed. by V.F. Dorofeev. Leningrad, VIR, 1980. (in Russian)

Dorofeev V.F., Korovina O.N. (Eds). Kulturnaya flora SSSR **[**Cultivated Flora of the USSR**].** T.1. Pshenitsa [V. 1. Wheat]. Leningrad, Kolos Publ., 1979. (in Russian)

Flyaksberger K.A. Kulturnaia flora SSSR [Cultivated Flora of the USSR]. T. 1. Khlebnye zlaki. Pshenitsa [V. 1. Cereals. Wheat]. Moscow–Leningrad, Sel'khozgiz Publ., 1935. (in Russian)

Flyaksberger K.A. Opredelitel' raznovidnostey nastoyashchikh khlebov po Kernike [Key to true cereal varieties according to Koernicke]. Tr. Byuro po prikl. botanike = Bull. Appl. Bot. 1908;1(3/4):12-235. (in Russian)

Gandilyan P.A. Opredelitel' pshenitsy, egilopsa, rzhi i yachmenia [Key to Wheat, *Aegilops*, Rye and Barley]. Erevan, Acad. Sci. Armenian SSR, 1980. (in Russian)

Gökgöl M. Turkiye Bugdalari. Istambul, 1939;861-863.

Gökgöl M. Uber die Genzentrentheorie und der Weizen. Z. Pflanzenzuchtung, 1941;23:576-577.

Goncharov N.P. Sravnitel'naya genetika pshenits i ikh sorodichey [Comparative Genetics of Wheats and Their Related Species]. Novosibirsk, Geo Publ., 2012. (in Russian)

Kimber G., Sears E.R. Evolution in the genus *Triticum* and the origin of cultivated wheat. Wheat and Wheat Improvement. Ed. E.G. Heyne. Madison: American Society of Agronomy, 1987;154-164.

Löve A. Conspectus of the Triticeae. Feddes Repert. 1984;95(7-8): 425-521.

Mac Key J. Species relationship in *Triticum*. Proc. of 2nd Int. Wheat Genetics Symp. Hereditas. 1966;2:237-276.

Mac Key J. A plant breeder's perspective on taxonomy of cultivated plants. Biologisches Zentralblatt. 1988;107:369-379.

McNeill J., Barrie F.R., Bucr W.R., Demoulin V., Greuter W., Hawksworth D.L., Herendeen P.S., Knapp S., Marhold K., Prado J., Prud'homme van Reine W.F., Smith G.F., Wiersema J.H., Turland N.J. International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Melbourne Code). ad. by the Eighteenth International Botanical Congress. Melbourne, Australia, July, 2011. http://www.iapt-taxon.org/nomen/main.php.

Van Slageren M.W. Wild wheats: a monograph of *Aegilops* L. and *Amblyopyrum* (Jaub. et Spach) Eig (Poaceae). Wageningen Agr. Univ. Pap. 1994;7:1-513.

Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):158-169
DOI 10.18699/VJ17.234

Горох абиссинский (*Lathyrus schaeferi* Kosterin nom. nov. pro *Pisum abyssinicum* A. Br.) – проблематичный таксон

О.Э. Костерин

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

Горох абиссинский (*Pisum abyssinicum* A. Br.) известен из Эфиопии и Йемена, где культивируется наряду с культурным подвидом гороха посевного (*Pisum sativum* L. subsp. *sativum*). Представления о возможной встречаемости абиссинского гороха в дикорастущем состоянии восходят к предположениям, высказанным в XIX в., и не основаны на конкретных данных. *P. abyssinicum* представляет практический интерес благодаря своей скороспелости и устойчивости к бактериальной гнили. Морфологически он сходен с *P. sativum*, однако очень плохо скрещивается с ним в качестве как материнского, так и отцовского родителя. Кариотип абиссинского гороха изменчив. Сообщалось об одной-двух реципрокных транслокациях. В то же время существуют и образцы, не имеющие транслокаций относительно стандартного кариотипа посевного гороха; тем не менее завязываемость семян в скрещиваниях с посевным горохом остается крайне низкой, а фертильность пыльцы гибридов первого и второго поколения – сниженной. Имеются данные о влиянии на фертильность пыльцы гибридов района генома, содержащего ген, участвующий в конфликте ядра и цитоплазмы в отдаленных скрещиваниях гороха. Известные образцы абиссинского гороха дивергировали всего около 4000 лет назад и весьма близки друг к другу генетически. Наличие аллелей многих молекулярных маркеров, общих с *Pisum fulvum* Sibth. et Smith и *P. sativum* L. subsp. *elatius* (Bieb.) Schmalh., свидетельствует в пользу гипотезы Л.И. Говорова о том, что абиссинский горох произошел от их спонтанного гибрида. Возможно, гибридизация имела место в условиях культуры, в Йемене или низменности Афар. Выявлен представитель *P. sativum* subsp. *elatius*, использование которого в качестве отцовского родителя в скрещиваниях с абиссинским горохом дает гибриды F_1 с полностью фертильной пыльцой. Скрещивания *P. abyssinicum* × *P. fulvum* дают наибольший выход гибридных семян среди всех проведенных отдаленных скрещиваний, так что *P. abyssinicum* может использоваться в качестве «моста» при интрогрессии генов от *P. fulvum* к *P. sativum*. Достаточно высокая степень репродуктивной изоляции абиссинского гороха от других представителей рода соответствует биологической концепции вида, однако положение образцов *P. abyssinicum* в качестве мелкого кластера среди образцов *P. sativum* subsp. *elatius* на молекулярных филогенетических реконструкциях противоречит филогенетической концепции вида. Большинство авторов признает абиссинский горох в качестве вида *Pisum abyssinicum*, меньшинство – в качестве подвида *P. sativum* subsp. *abyssinicum* (A. Br.) Berger. По-видимому, корректнее всего считать его гибридогенным видом. В связи с недавним

Abyssinian pea (*Lathyrus schaeferi* Kosterin nom. nov. pro *Pisum abyssinicum* A. Br.) is a problematic taxon

O.E. Kosterin

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

The Abyssinian pea (*Pisum abyssinicum* A. Br.), concerned in this review, is known from Ethiopia and Yemen, where it is cultivated along with the common pea (*Pisum sativum* L. subsp. *sativum*). The continuously reproduced notion of its possible spontaneous occurrence in the wild ascends to suppositions made in the XIX century and is not based on any actual data. *P. abyssinicum* is of practical interest owing to its extra early ripening and resistance to bacterial blight. Morphologically it is very similar to *P. sativum* but its crossability with it is bad as either seed or pollen parent. Traditionally this reproductive barrier was associated with karyological differences. The Abyssinian pea karyotype is variable as 1–2 reciprocal translocations were reported. At the same time there are accessions not differing from the standard karyotype of *P. sativum* with respect to reciprocal translocations, yet their crossability with the latter is very low and the pollen fertility of F_1 and F_2 hybrids is lowered. Data were reported on influence of the region of Linkage Group III, containing a gene known to participate in the conflict of nucleus and plastids in remote crosses of peas, on the pollen fertility of hybrids with abyssinian pea. With their karyological variability, the known accessions of the Abyssinian pea are very close to each other genetically, as they diverged just about 4000 years ago. The presence of alleles of molecular markers common with *Pisum fulvum* Sibth. et Smith on the one hand and *P. sativum* L. subsp. *elatius* (Bieb.) Schmalh. on the other hand evidences in favour of an old hypotheses by L.I. Govorov that the Abyssinian pea originated from their spontaneous hybrid. This spontaneous cross may have taken place under cultivation, in Yemen or Afar Depression. A representative of *P. sativum* subsp. *elatius* was revealed, the F_1 hybrids of which with the Abyssinian pea as a seed parent had fully fertile pollen. *P. abyssinicum* × *P. fulvum* crosses provide the best hybrid seed outcome among remote crosses conducted, so that *P. abyssinicum* can be used as a 'bridge' for gene introgression from *P. fulvum* to *P. sativum*. Rather a high

Received 11.09.2016
Accepted for publication 04.11.2016
Published 15.03.2017
© AUTHOR, 2017

e-mail: kosterin@bionet.nsc.ru

включением рода *Pisum* L. в род *Lathyrus* и существованием названия *Lathyrus abyssinicus* A. Br. (синоним *L. sativus* L.) абиссинский горох получает новое название – *Lathyrus schaeferi* (A. Braun) Kosterin nomen novum pro *Pisum abyssinicum* A. Braun – в честь Х. Шэфера, обосновавшего ревизию таксономии трибы Fabeae на основании молекулярной реконструкции ее филогении. Предложены новые комбинации *Lathyrus* sectio *Pisum* (L.) Kosterin combinatio nova и *Lathurus fulvus* (Sibthrop et Smith) Kosterin combinatio nova.

Ключевые слова: *Pisum abyssinicum*; *Pisum sativum*; *Pisum fulvum*; *Lathyrus*; горох; таксономия; биологическая концепция вида; филогенетическая концепция вида; гибридогенные виды; реципрокные транслокации; конфликт ядра и цитоплазмы; новое название; новые комбинации.

level of reproductive isolation of the Abyssinian pea from other representatives of the genus conforms the biological species concept, however the disposition of *P. abyssinicum* accessions as a small cluster among accessions of *P. sativum* subsp. *elatius* on molecular phylogeny reconstructions violates the phylogenetic species concept. Most authors assume the Abyssinian pea as a species, *Pisum abyssinicum*, some as a subspecies, *P. sativum* subsp. *abyssinicum* (A. Br.) Berger. Perhaps it would be most correct to consider it as a hybridogenic species. Because of the recent subsuming of the genus *Pisum* L. into the genus *Lathyrus* and with respect to the existing name *Lathyrus abyssinicus* A. Br. (a synonym of *L. sativus* L.), the Abyssinian pea is given a new name *Lathyrus schaeferi* (A. Braun) Kosterin nomen novum pro *Pisum abyssinicum* A. Braun), in honour of Hanno Schaefer, who substantiated the revision of tribe Fabeae by molecular reconstruction of its phylogeny. New combinations of *Lathyrus* sectio *Pisum* (L.) Kosterin combinatio nova and *Lathurus fulvus* (Sibthrop et Smith) Kosterin combinatio nova are proposed.

Key words: *Pisum abyssinicum*; *Pisum sativum*; *Pisum fulvum*; pea; taxonomy; biological species concept; phylogenetic species concept; hybridogenic species; reciprocal translocations; conflict of nucleus and cytoplasm; new name; new combinations.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Костерин О.Э. Горох абиссинский (*Lathyrus schaeferi* Kosterin nom. nov. pro *Pisum abyssinicum* A. Br.) – проблематичный таксон. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):158-169. DOI 10.18699/VJ17.234

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Kosterin O.E. Abyssinian pea (*Lathyrus schaeferi* Kosterin nom. nov. pro *Pisum abyssinicum* A. Br.) is a problematic taxon. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(2):158-169. DOI 10.18699/VJ17.234

Горох абиссинский – *Pisum abyssinicum* A. Br. (или по другой трактовке *Pisum sativum* L. subsp. *abyssinicum* (A. Br.) Berger), встречающийся в Йемене и Эфиопии наряду с горохом посевным *P. sativum* L. (Говоров, 1937; Макашева, 1979; Maxted, Kell, 2009), является «вторичным сородичем» последнего как близкий вид того же рода (Maxted, Kell, 2009), скрещивается с ним, хотя и не без труда, и может служить источником дополнительного генетического разнообразия в селекции культурного гороха. Так, он устойчив к бактериальной гнили, вызываемой *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (без специфичности к расе паразита) (Elvira-Recuenco et al., 2003; Hollaway et al., 2007). Уже предпринимаются попытки интрогрессии этой устойчивости абиссинского гороха в посевной горох путем скрещиваний и ее использования в коммерческих сортах (Elvira-Recuenco, 2000, цит. по: [Maxted, Kell, 2009]; Elvira-Recuenco et al., 2003; Hollaway et al., 2007). Однако литература, касающаяся абиссинского гороха, скудна и противоречива, что само по себе затрудняет как исследования этого узкоареального таксона, так и его возможное практическое использование. Цель настоящего обзора – попытка исправить это досадное обстоятельство путем обобщения и обсуждения содержащихся в литературе сведений об абиссинском горохе с привлечением некоторых собственных данных.

В заключительном разделе статьи, посвященном вопросам таксономии, латинское название абиссинского гороха будет вынужденно изменено, и автор признает это название правильным. Однако до этого раздела в целях соответствия обозреваемой литературе для всех таксонов гороха будут использоваться традиционные названия в составе рода *Pisum* L.

Признаки абиссинского гороха

Pisum abyssinicum A. Br. представляет собой небольшую, четко очерченную группу форм, весьма сходных с посевным горохом, но еще более между собой, так что даже монограф рода *Pisum* L. Р.Х. Макашева (1979) не разделила его на разновидности и выделила всего лишь три подразновидности, различающиеся окраской оболочки семян (фиолетово-крапчатая – subvar *abyssinicum*, темно-фиолетовая – subvar. *vavilovianum* (Govorov) Makash. или зеленовато-сероватая – subvar. *viridulogriseum* (Govorov) Makash.). Для абиссинского гороха характерны небольшая длина главного стебля, сильный восковой налет в молодом возрасте, что придает листве серебристый оттенок, умеренно зубчатые прилистники и листья, полное отсутствие антоциана на вегетативных частях растения, небольшие, довольно бледно окрашенные цветки (рис. 1, *а*) и крайняя скороспелость (Говоров, 1937; Макашева, 1979), причем раннее зацветание даже в условиях длинного дня определяется уникальным аллелем гена *lf* (Weeden, 2007). По нашим наблюдениям в теплице, по созревании семян и усыхании главного стебля растение дает множественные прикорневые ветви, которые не уступают по размеру главному стеблю, цветут и плодоносят, в сумме давая урожай гораздо больший, чем главный стебель. По всей видимости, это свидетельствует об адаптации к аридному климату, причем с возможностью использовать случаи, когда в норме короткий влажный период длится дольше

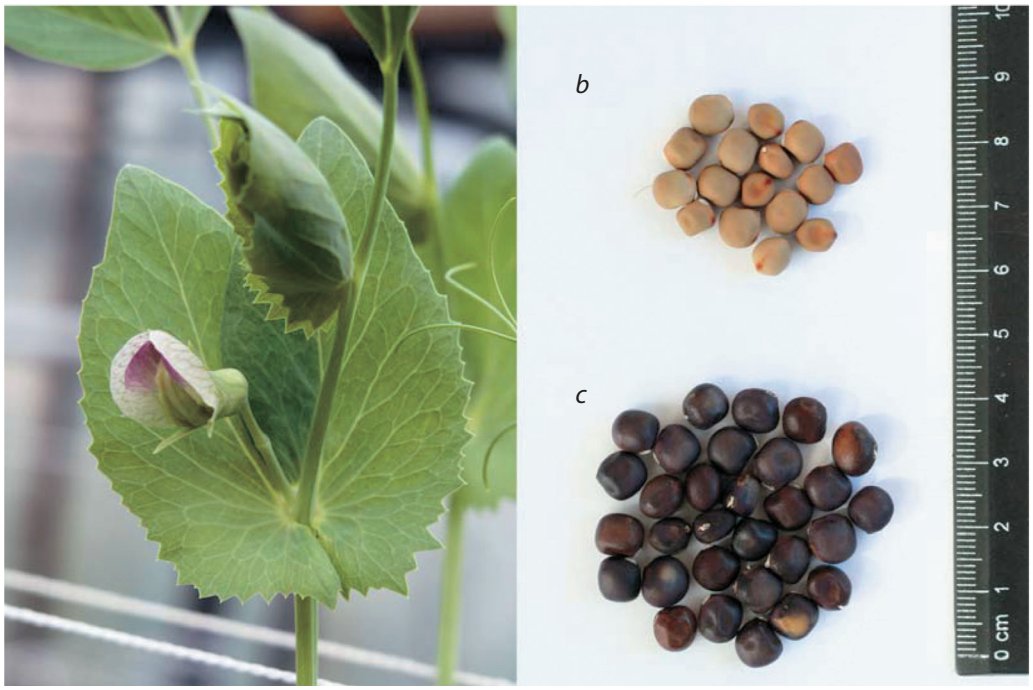


Fig. 1. *Lathyrus schaeferi* (A. Br.) Kosterin nom. nov. pro *Pisum abyssinicum* A. Br.

a – the subapical apical node with a flower (accession VIR2759, Ethiopia); *b* – seeds with phenotype u (accession WL1446); *c* – seeds with phenotype U (accession VIR2759).

обычного. В связи с этими особенностями горох абиссинский можно рассматривать как потенциальный донор генов скороспелости для культурного гороха.

Как следует из ботанических описаний данного таксона (Говоров, 1937; Макашева, 1979), большинство его признаков, как качественных, так и количественных, не выходит за пределы изменчивости посевного гороха (*Pisum sativum* L.). Так, первая ступень ключа Р.Х. Макашевой (1979. С. 56) для определения шести подвидов *P. sativum*, к которым она относит и абиссинский горох в ранге подвида *P. sativum* subsp. *abyssinicum* (A. Br.) Berger, выглядит следующим образом:

«1. Стебель тонкий, ветвящийся от основания, нижние пазушные побеги взрослого растения отходят почти горизонтально от главного стебля. В верхнем ярусе растения с четырьмя симподиальными пучками. Междоузлия только удлиненные. Цветки мелкие (1.8 см и менее). Семенная кожура средней толщины, высота клеток палисадного эпидермиса+гиподермы преимущественно от 90–130, реже до 180 мкм 2

+ Стебель средней толщины или толстый, преимущественно неветвящийся или слабо ветвящийся, главным образом не от основания, реже ветвящийся от основания под острым углом, иногда почти под прямым углом, но тогда семенная кожура утолщенная (высота клеток палисадного эпидермиса+гиподермы более 180 мкм), мелкозернистая. В верхнем ярусе растения с 6–11 симподиальными пучками, редко с 4, но тогда семенная кожура мелкозернистая. Междоузлия от длинных до коротких. Цветки от среднемелких (2 см) до крупных (3.5 см). Семенная кожура разной толщины (80)–90–180–250 мкм ..... 4».

В первой ступени ключа упомянуты количественные признаки, континуум которых разделен весьма условно; для некоторых из них для растений с признаками тезы рекомендовано следовать антитезе при наличии у них дополнительного качественного признака – толстой зернистой семенной оболочки (контролируется доминантным аллелем гена *Gty*), характерной для дикорастущих представителей вида *P. sativum*, относимых Р.Х. Макашевой (1979) к подвидам *P. sativum* subsp. *syriacum* (Boiss et Noë) Berger и *P. sativum* subsp. *elatius* (Bieb.) Schmalh., но объединяемых в один подвид *P. sativum* subsp. *elatius* N. Maxted и M. Ambrose (2001). Однако, по нашим данным (Zaytseva et al., 2016), часть этих представителей также имеет тонкую небугорчатую семенную оболочку, что дезавуирует первую ступень ключа Р.Х. Макашевой.

В этом ключе подвид *P. sativum* subsp. *abyssinicum* соответствует тезе и находится ниже, на ступени 2, где он противопоставляется другим подвидам (ssp. *asiaticum* Govorov и ssp. *transcaucasicum* Makash.) по признакам однопарности листочков в средней части растения, отсутствия антоциановой окраски у основания прилистников, зубчатых на 2/3 края прилистников и «блестящих семян». Однако первые два признака приводятся и у подвидов, отделяемых ступенью 1, которую мы не считаем адекватной (см. выше). Пожалуй, только последний признак абиссинского гороха – блестящая поверхность семян – в целом не свойственен *P. sativum* (другим подвидам *P. sativum*, согласно системе Р.Х. Макашевой) и может быть назван диагностическим (аутапоморфией). Заметим, что у абиссинского гороха семена не вполне шаровидной формы, сплюснутые с боков и слегка вдавленные у коре-

шочка, чаще всего сплошной черной окраски (фенотип U, рис. 1, *в*), но иногда фиолетово-крапчатые либо золотисто-серые (рис. 1, *б*) (Макашева, 1979).

Цитогенетические особенности

Несмотря на значительное сходство посевного и абиссинского гороха, скрещивания между ними в обоих направлениях приводят к гибридам первого поколения с очень низкой фертильностью, т. е. налицо сильнейшая репродуктивная изоляция (Говоров, 1930; Rosen, 1944; Дрозд, 1965; Соболев, Агаркова, 1975; Kosterin, Bogdanova, 2015). Причины этой изоляции принято считать цитогенетическими. Действительно, они могут объяснить высокую стерильность гибридов, поскольку гетерозиготы по хромосомным перестройкам имеют проблемы с эуплоидным расхождением хромосом в мейозе. Но они не могут объяснить низкую завязываемость гибридов F_1 при скрещивании посевного и абиссинского гороха (Kosterin, Bogdanova, 2015), которая должна быть связана с какими-то проблемами с одновременной реализацией двух версий генетической программы развития, объединенных в гибридном эмбрионе, либо с презиготическими факторами, препятствующими образованию зигот.

Цитогенетические различия абиссинского и посевного гороха также далеко не однозначны. D. von Rosen (1944) обнаружил, что кариотип абиссинского гороха по сравнению с кариотипом европейского культурного гороха имеет реципрокную транслокацию и инверсию в одной из транслоцированных хромосом, а также предположил наличие других мелких перестроек, инверсий либо делеций, влияющих на длины хромосомных плеч. F. Saccardo (1971) также обнаружил у абиссинского гороха реципрокную транслокацию. H. Lamprecht (1964) на основании генетического анализа пришел к выводу о наличии у абиссинского гороха двух независимых реципрокных транслокаций. Однако к этому сообщению следует подходить с осторожностью, поскольку автор исходил из генетической карты гороха, впервые составленной им самим, в которой блоки тесно сцепленных генов были в ряде случаев неправильно объединены в группы сцепления (Костерин, 2015). На основании измерения длин хромосомных плеч у гибридов абиссинского гороха с линией, имеющей стандартный кариотип посевного гороха, и с линиями стандартного набора транслокаций (Lamm, Miravalle, 1959), C. Conicella и A. Errico (1990) предположили, что обе исследованные ими линии *P. abyssinicum*, скорее всего, имели перицентрические инверсии в хромосоме 6, причем границы инверсий у двух линий не совпадали. Одна из линий, возможно, имела также делецию в хромосоме 4 (длина которой была уменьшена), но у нее не было реципрокных транслокаций. У другой линии была найдена реципрокная транслокация между хромосомами 3 и 4, установленная посредством наблюдения крестообразных структур в метафазе первого деления мейоза.

Налицо существенная изменчивость кариотипа абиссинского гороха, в том числе обнаруженная в одном и том же исследовании (Conicella, Errico, 1990), что исключает артефакты, связанные с разницей методов, применяемых исследователями. Важно, что одна из линий не имела транслокаций по сравнению со стандартным кариотипом *P. sativum* subsp. *sativum* и отличалась от него лишь инверсией и, возможно, делецией. Такие различия не могут быть причиной низкой репродуктивной совместимости с культурным горохом, поскольку среди гамет структурных гетерозигот летальными оказываются лишь немногочисленные кроссоверы в пределах инверсий. Действительно, в анафазе мейоза в потомстве гибридов между абиссинским и посевным горохом наблюдались хромосомные мосты (Соболев, Агаркова, 1975), которые указывали на наличие дицентрических фрагментов, возникающих у структурных гетерозигот вследствие кроссинговера в пределах инверсии. Таким образом, репродуктивные барьеры между посевным и абиссинским горохом, проявляющиеся в стерильности гибридов, хотя бы частично должны иметь нецитогенетическую природу.

Ареал и культурный статус

Абиссинский горох известен в культуре из Эфиопии и Йемена (Говоров, 1937; Макашева, 1979; Maxted, Ambrose, 2001). Следует отметить, что в Эфиопии интенсивно культивируются разнообразные традиционные местные формы, большинство из которых относится к культурному подвиду посевного гороха, *P. sativum* subsp. *sativum* (Макашева, 1979), и лишь немногие представляют *P. abyssinicum*. Об этом, в частности, свидетельствует обширная коллекция местных форм гороха, собранная в Эфиопии Н.И. Вавиловым, хранящаяся во Всероссийском институте генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова и обследованная нами ранее (Бердников и др., 1989; Berdnikov et al., 1993). Это обстоятельство иногда приводит к неверным определениям, когда традиционные образцы из Эфиопии относят к абиссинскому гороху на основании исключительно названия последнего, а не его признаков.

В литературе, как старой, так и новой, содержатся голословные утверждения о существовании абиссинского гороха в диком состоянии. Однако ранние сообщения, по всей видимости, являются не более чем предположениями и недостаточно обоснованными экстраполяциями, а впоследствии авторы повторяли их вслед за предшественниками. В своей классической обработке рода *Pisum* для «Культурной флоры СССР» Л.И. Говоров дает противоречивую информацию об абиссинском горохе. Он говорит об абиссинском горохе как о культурном виде: «Необходимо признать в роде *Pisum*, помимо возделываемых видов *P. sativum* и *P. abyssinicum*, 4 диких вида: *P. formosum* (Stev.) Boiss., *P. fulvum* Sibth et Sm., *P. elatius* (MB.) Stev. и *P. humile* Boiss et Noë» (Говоров, 1937. С. 232). Далее автор вскользь упоминает о его существовании в дикорастущем состоянии: «В горных районах Абиссинии, где имеется в диком виде и в культуре эндемичный вид *P. abyssinivum*, более широко распространены особые формы, которые должны быть отнесены к *P. sativum* ssp. *communae*» (Там же. С. 243). Затем выясняется, что существование абиссинского гороха в дикорастущем состоянии – всего лишь предположение, сделанное в середине XIX в.: «A. Richards (1847) высказывал предположение, что *P. abyssinicum* является дикой формой Абиссинии. E. Chiovenda (1912) считает, что формы гороха – одни из наиболее древних, вошедших в культуру, и только изредка встречаются в ди-

ком состоянии» (Там же. С. 244). П.М. Жуковский (1964) передает информацию о распространении абиссинского гороха неопределенно: растет в Йемене и Эфиопии в горах; культивируется местным населением. Р.Х. Макашева (1979. С. 69) сообщает, что он «известен в культуре, изредка встречается в диком виде в горах на высоте до 2000 м над у.м.». Судя по всему, никакой конкретной информации о нахождении *P. abyssinicum* в дикой природе не было опубликовано ни в XIX, ни в XX вв., таким образом, представление о существовании абиссинского гороха в диком состоянии, по-видимому, представляет собой разновидность научного мифа.

Казалось бы, указания на нахождение *P. abyssinicum* в диком виде появились недавно в обстоятельной работе N. Maxted и S.P. Kell (2009. P. 107), которые утверждают, что дикий *P. abyssinicum* собран всего в трех точках Эфиопии (в провинциях Тиграй, Вело и Арси), и в подстрочном примечании отмечают, что «сборы культивируемого материала были сделаны и в других точках (в основном на рынках) Эфиопии» (перевод – *О. К.*). Заметим, что после 1995 г. провинций Вело и Арси не существовало – первая была поделена между провинциями Амхара и Афар, вторая включена в провинцию Оромия. В цитируемой работе (Maxted, Kell, 2009) на рисунке 19 приведена карта (с границами провинций, существовавших до 1995 г.), где эти точки отмечены. В подписи к этому рисунку в качестве источника данных приведена ссылка на базу данных SINGER, доступ к которой был осуществлен через портал GBIF, http://data.gbif.org/datasets/resource/1430 18 августа 2008 г. Согласно личному сообщению S.P. Kell, данные о дикорастущем статусе абиссинского гороха в этих точках были получены именно из этой базы. Автор настоящего обзора ознакомился с нею и обнаружил, что она не содержит никаких данных о диком состоянии указанных образцов абиссинского гороха. Эти точки принадлежат группе образцов коллекции ICARDA с диапазоном номеров ICARDA-51495–ICARDA-51506, «полевыми номерами» (field numbers) 22770–22880 и точными координатами, несомненно, взятыми с помощью GPS-навигатора. Очевидно, они были собраны одной экспедицией и достаточно недавно (однако сборщик и даты не указаны). Трем локалитетам, приведенным на карте (Maxted, Kell, 2009), соответствуют четыре образца: ICARDA-51495, ICARDA- 51496 (оба этикетированы «41 км Ю [г.] Назарет, «по дороге на [г.] Асела» [провинция Оромия]), ICARDA-51497 (Бурахат, 41 км З [г.] Адиграт» [провинция Тиграй]), ICARDA-51500 («3 км С [г.] Корем» [провинция Тиграй]). (В квадратных скобках приведены пояснения автора.) От прочих образцов данного диапазона они отличаются лишь тем, что в их этикетках отсутствует слово «рынок» («market»), присутствующее у семи из восьми других образцов из этой серии, и приведены не населенные пункты, как у восьми других образцов, а точки на определенном расстоянии от населенных пунктов. По-видимому, авторы (Maxted, Kell, 2009) пользовались следующей «логикой»: если образец получен на рынке, то он культивируемый, а если не на рынке и вне населенного пункта, то он дикий, – отвлекаясь при этом от очевидного обстоятельства, что культуры растут не на рынках и не в населенных пунктах, а на полях вне их! (Заметим, что, по наблюдениям автора, Эфиопское нагорье почти полностью освоено в сельскохозяйственном отношении, так что поля покрывают большую часть его площади). Мы видим, что научный миф о существовании дикорастущего абиссинского гороха столь живуч, что даже маститые авторы продолжают его придерживаться.

Гипотезы о происхождении

Отсутствие хоть сколько-нибудь заслуживающей доверия информации об абиссинском горохе в дикорастущем состоянии не снимает, а лишь заостряет вопрос о его происхождении. По этому поводу Л.И. Говоров замечает: «Более детальное изучение материала по Юго-Западной Аравии дает больше оснований считать эти формы за особый самостоятельный вид *P. abyssinivum*, эндемичный для Иемена и заносный для Абиссинии» (Говоров, 1937. С. 240). С этим предположением трудно не согласиться. Род *Pisum*, как и вся триба Fabeae, – средиземноморского происхождения, Эфиопское нагорье относится к африканскому подцарству палеотропического флористического царства (Тахтаджян, 1978), куда проникают лишь немногие представители трибы (Schaefer et al., 2012). По личным наблюдениям автора в августе 2012 г., в целом представители трибы Fabeae на Эфиопском нагорье практически не представлены (за две недели полевых исследований встречен единственный вид). В то же время Аравия имеет флору, переходную от эфиопской к средиземноморской, и вполне могла быть родиной особого вида гороха. Исключительная скороспелость абиссинского гороха говорит о его происхождении из районов с очень коротким периодом, благоприятным для вегетации. Это как раз могла быть засушливая Аравия, но также и находящаяся на противоположном берегу Красного моря низменность Афар (или Данакиль).

Однако Л.И. Говоров выдвигает относительно происхождения абиссинского гороха предположения, кажущиеся гораздо менее обоснованными. Он полагает, что *P. abyssinicum* произошел вследствие гибридизации *P. elatius* и *P. fulvum*, независимой либо даже однократной: «Не исключена возможность ..., что один начальный гибридный комплекс синтезировался от этих двух видов в зоне их настоящего ареала, включающего Малую Азию, Закавказье, Иран и Сирию с Палестиной. Из этого комплекса несомненно возник ... дикий вид *P. humile*. От этого же скрещивания произошел эндемичный вид в горных районах Юго-Западной Аравии *P. abyssinicum*, распространившийся затем в горной Абиссинии» (Говоров, 1937. С. 240). Далее автор отмечает: «По морфологическим признакам он < *P. abyssinicum. – О. К.* > ближе стоит к *P. fulvum*; рекордная скороспелость также приближает его к эфемеру *P. fulvum* < *P. fulvum* – не эфемер! – *О. К.* >. Несомненно, в синтезе *P. abyssinicum* принимал участие *P. fulvum*. Под влиянием последовавших затем мутирования и скрещивания *P. abyssinicum* с *P. eatius* или с производными ssp. *asiaticum* с формами из Египта (proles *aegypticum*) произошло разнообразие других культурных форм, широко распространенных в горных районах Абисинии. ... Влияние *P. abyssinicum* сказывается на формообразовании гороха Центральной Индии. Здесь синтез шел в основном под влиянием азиатских форм (ssp. *asiaticum*), но пильчатость

листочков, сильно выраженная антоциановая окраска растений на первых фазах роста, а также скороспелость дают основание предполагать о влиянии аравийского эндема на горох Индии» (Говоров, 1937. С. 240).

Все эти смелые предположения были сделаны вследствие придания филогенетического смысла таким признакам фенотипа, как скороспелость, зубчатость, антоциановая пигментация. В отсутствие более надежных филогенетических маркеров это можно понять. Кроме того, Л.И. Говоров исходит из неявного допущения, что каждый из этих признаков мог возникнуть в эволюции лишь единожды и его наличие в фенотипе указывает на то, что первоначальный его носитель находился в числе предков. То есть гомоплазия – независимое возникновение одного и того же признака вследствие независимых мутаций в одних и тех же или разных генах – полностью исключается. Однако нам представляется несомненным, что все подобные признаки весьма изменчивы, зависят от многих генов, адаптивно нагружены (возможно, за исключением зубчатости), как следствие, способны легко и многократно изменяться в ходе эволюции в любом направлении и тем самым совсем не подходят для реконструкции филетических отношений.

Абиссинский горох в свете молекулярных исследований

Современные молекулярные реконструкции филогении рода *Pisum* показывают, что все исследованные образцы *P. abyssinicum* весьма близки друг к другу генетически (в полном соответствии с внешними признаками) и представляют собой небольшую компактную ветвь внутри (!) дерева *P. sativum* s.l. (Ellis et al., 1998; Vershinin et al., 2003; Zaytseva et al., 2012, 2015). Генетическая однородность таксона, по-видимому, свидетельствует о сильном эффекте бутылочного горлышка в его предыстории, возможно, связанного с гибридизационным событием (Vershinin et al., 2003). С генетической однородностью контрастирует упоминавшаяся выше большая цитогенетическая гетерогенность этого таксона (Lamprecht, 1964; Conicella, Errico, 1990); причины такого противоречия не ясны. Время дивергенции образцов *P. abyssinicum* друг от друга, т. е. время существования последнего общего предка современных образцов, было оценено как 4000 лет назад. T.H.N. Ellis с коллегами (1998) резонно посчитали это временем доместикации *P. abyssinicum*, произошедшей независимо от *P. sativum* subsb. *sativum*, дивергенция которого началась 10000 лет назад с момета его одомашнивания. Оценка времени дивергенции абиссинского гороха приблизительно совпадает с проникновением евразиатских навыков земледения в Эфиопию. Это соответствует началу периода Среднего Царства в Древнем Египте. Однако время дивергенции самой ветви *P. abyssinicum* от прочих представителей рода *Pisum* сопоставимо с таковым для ветви *P. sativum* subsp. *sativum* (Ellis et al., 1998). Это могло бы означать, что абиссинский горох дивергировал от культурного подвида посевного гороха раньше, чем был одомашнен. Заметим, однако, что речь идет о независимой доместикации двух разных таксонов гороха, а не о независимом возникновении практики культивирования гороха и самой идеи земледелия. Абиссинский горох весьма похож на посевной внешне, опознается в качестве гороха без сомнений и мог быть привлечен в культуру в качестве примеси к уже культивируемому *P. sativum* subsb. *sativum* или мог заменить его при дефиците посевного материала. Каких-либо объективных данных о первоначальном источнике привлекаемого в культуру *P. abyssinicum* не имеется.

В то же время А.В. Вершинин с коллегами (Vershinin et al., 2003) обнаружили у *P. abyssinicum* совпадение значительной доли аллелей молекулярных мареров с *P. fulvum*. Более поздняя работа той же группы (Jing et al., 2010), предпринявшей кластеризацию генетического разнообразия рода в отношении RBIP-маркеров (полиморфизм по инсерции ретротранспозонов), подтвердила тот же вывод: подгруппа 3.1, образованная образцами *P. abyssinicum*, оказалась равноудаленной от подгрупп 3.2 («*P. elatius*») и 3.4 (*P. fulvum*), что отражает наличие у абиссинского гороха сопоставимого количества аллелей, общих с каждым из этих двух таксонов.

Абиссинский горох – гибридогенный вид

Вышеупомянутые результаты вдохнули новую жизнь в казавшуюся голословной гипотезу Л.И. Говорова (1937) о гибридной природе абиссинского гороха. Поскольку ни *P. sativum* subsp. *elatius*, ни *P. fulvum* не встречаются в ареале абиссинского гороха, R. Jing с коллегами (2010) предположили, что гибридизация между ними имела место в западной части Плодородного полумесяца (Южная Турция, Сирия, Ливан, Израиль, Иордания), после чего гибридная форма, представленная очень небольшой первоначальной популяцией, была взята в культуру и привнесена в Северо-Восточную Африку, где и превратилась в известный нам *P. abyssinicum*. Данное предположение представляется весьма правдоподобным. К нему можно добавить лишь следующее.

1. Такой гибрид мог привлечь внимание древнего земледельца именно своей исключительной скороспелостью, позволявшей получить урожай в аридных условиях.

2. Обсуждаемая гипотеза предполагает, что *P. abyssinicum* никогда не существовал в дикорастущем состоянии в современном ареале (Йемен и Эфиопия).

3. В то же время нет оснований полагать, что в первоначальной гибризидации участвовали именно дикорастущие, а не культурные растения, т. е. дикого абиссинского гороха могло не существовать в принципе. Древний земледелец, уже имевший идею и навыки возделывания гороха, приобретенные вследствие изначальной доместикации гороха с образованием *P. sativum* subsp. *sativum*, мог вовлекать в культуру наряду с ним или вместо него и какие-то местные формы *P. sativum* subsp. *elatius*, в особенности при недостатке семенного материала культурного гороха в случае неурожаев. Такое вовлечение могло происходить при засорении посевов посевного гороха дикими формами. Также в культуру могли попасть генотипы, возникавшие вследствие спонтанной гибридизации, с одновременным отбором среди сегрегирующих гибридов носителей доместикационного синдрома, прежде всего нераскрываемости бобов, но также таких входящих в него признаков, как «отсутствие периода покоя семян» и «гладкая оболочка семян». При распространении зем-

леделия за пределы Плодородного полумесяца в менее благоприятные условия некоторые из таких гибридных генотипов могли получать преимущество. Например, в аридных условиях Аравии преимущество должны были получать ультраскороспелые формы. Возможно, они и возникли в культуре вследствие спонтанной гибридизации *P. sativum* subsp. *sativum* и *P. sativum* subsp. *elatius* и последующей сегрегации, дав начало абиссинскому гороху при гибридизации с *P. fulvum*.

Гибридная природа абиссинского гороха может стать установленным фактом либо быть отвергнута на основании полногеномных исследований, которые пока не проводились.

R. Jing с коллегами (2010) сообщают, что осуществленный ими кластерный анализ также указывает на образцы *P. sativum* subsp. *elatius*, которые представляются наиболее близкими к предполагаемому родоначальнику абиссинского гороха. (К сожалению, сопроводительный файл к их статье, содержащий информацию об исследованных образцах, на сайте журнала недоступен, поэтому данную информацию следует считать неопубликованной.)

В связи с гибридной теорией возникновения абиссинского гороха нужно отметить, что у всех четырех образцов *P. abyssinicum*, вовлеченых в анализ двух паралогичных генов гистона H1 (Zaytseva et al., 2012, 2015), в каждом из паралогов был выявлен идентичный уникальный аллель, не обнаруженный за пределами данного таксона, т. е. оказавшийся для него специфичным. Также у трех проанализированных образцов *P. abyssinicum* была найдена уникальная замена в пластидном спейсере *psbA-trnH* (Zaytseva et al., 2012, 2016). Таким образом, эволюционная ветвь *P. abyssinicum* уже после своего возникновения, каким бы оно ни было, успела зафиксировать и уникальные (синапоморфные) аллели в некоторых локусах.

Репродуктивная совместимость абиссинского гороха с другими формами

Представители *P. abyssinicum* до сих пор не вовлекались в эксперименты по отдаленному скрещиванию одновременно со многими формами гороха. В гидропонной теплице лаборатории искуственного выращивания растений ИЦиГ СО РАН нами был проведен широкомасштабный опыт по реципрокному скрещиванию восьми представителей рода *Pisum* L., включая *P. abyssinicum*, по принципу «все со всеми и сами на себя» (Kosterin, Bogdanova, 2015). Эти образцы были предложены в данной работе в качестве минимального базового набора генетического разнообразия гороха восточного Средиземноморья. Они включали в себя следующие образцы:

1) WL2140 (=WL2029; =JI224, =PI560061; =Wt303), Израиль, Иерусалим, Долина Креста. Типичный представитель вида *Pisum fulvum*.

2) VIR2759 (=JI1556; =JI1869; =WL1491; =WL2042), Эфиопия. *Pisum abyssinicum*; классифицирован Р.Х. Макашевой (1979) как *P. sativum* subsp. *abyssinicum* var. *vavilovianum* Govorov.

3) L100 (=712 по: (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973); =JI3273; =PI560069), Израиль, 10 км южнее г. Беер Шева, вади с лессовыми отложениями, сорничает в посевах ячменя: *Pisum sativum* subsp. *elatius*; первоначально классифицирован N. Ben-Ze'ev и D. Zohary (1973) как «южный *humile*».

4) VIR320, происхождение неизвестно (контаминат к образцу из Палестины, полученному Н.И. Вавиловым в 1922 г. от Е.У. Саттона (Франция)): *Pisum sativum* subsp. *elatius*. Сублиния из изначально высокогетерогенного образца, классифицировалась Р.Х. Макашевой (1979) как *P. sativum* subsp. *syriacum* (Boiss. et Noë) Berger var *syriacum* subvar *unianulum* Makasheva. Обладает интересными особенностями репродуктивной совместимости с культурным горохом (Bogdanova, Berdnikov, 2001; Богданова, Костерин, 2006; Bogdanova, 2007; Bogdanova et al., 2009; 2012).

5) 721 (=L104; =JI3262; =PI560059), Израиль, г. Кармель, 5 км северо-западнее г. Зихон Яаков, в маквисе: *Pisum sativum* subsp. *elatius*; исходно классифицирован N. Ben-Ze'ev и D. Zohary (1973) как *Pisum elatius*.

6) JI1794 (=716 по: (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973)), Голанские высоты, около 3 км северо-западнее г. Эль-Кунейтра, Тель Абу Нида, на вулканическом пепле: *Pisum sativum* subsp. *elatius*; исходно классифицирован N. Ben-Ze'ev и D. Zohary (1973) как «северный *Pisum humile*».

7) CE1 (=JI2629), Крым, Симеиз, 44º24′ с. ш., 33º59′ в. д., можжевело-кустарниковые заросли на южном склоне: *Pisum sativum* subsp. *elatius*.

8) WL1238 (=JI73), тестерная линия: *Pisum sativum* subsp. *sativum*. Гомозиготна по рецессивным аллелям многих генов с морфологическим эффектом, имеет стандартный кариотип (The Pisum-Genebank, 1984).

Подробные описания перечисленных образцов можно найти в Дополнительных материалах 1 к статье (Kosterin, Bogdanova, 2015). В вышеуказанной публикации приведены данные по скрещиваниям культурного подвида *P. sativum* L. subsp. *sativum* с семью остальными формами. Приведем в общей форме частично не публиковавшиеся ранее результаты автора по скрещиванию *P. abyssinicum*, представленного образцом VIR2759 (Эфиопия, без уточнения локалитета), с остальными формами. В каждой комбинации проведено около 30 скрещиваний (исключение – с *P. fulvum* в качестве материнского растения проведено 112 скрещиваний). Гибридов F_1 не было получено всего в двух комбинациях скрещиваний – VIRL2759 × L100 и VIR2759 × 721, т. е. абиссинский горох в качестве материнского растения вообще не завязал семян при опылении пыльцой обеих дикорастущих форм *P. sativum* из Южного Израиля, с которыми работали N. Ben-Ze'ev и D. Zohary (1973). Во всех остальных случаях выход полноценных гибридных семян был очень низкий, варьировал от 1 до 23 семян, а эффективность скрещиваний, *e*, оцененная как отношение количества завязавших гибридных семян к количеству проведенных скрещиваний (Kosterin, Bogdanova, 2014, 2015), варьировала от 0.01 до 0.76. Заметим, что эффективность скрещивания образца VIR2759 на себя оказалась немногим выше, в этом же опыте она составла 1.08 (Kosterin, Bogdanova, 2015), а в других опытах варировала от 0.63 до 2.11 (Kosterin, Bogdanova, 2014). Среднее же число семян в интактных бобах этого образца было оценено как 4.08 ± 0.17, при этом учитывались все бобы на растении, включая обычно малосемянные бобы боковых ветвей (Kosterin, Bogdanova, 2014). На рис. 2 схе-

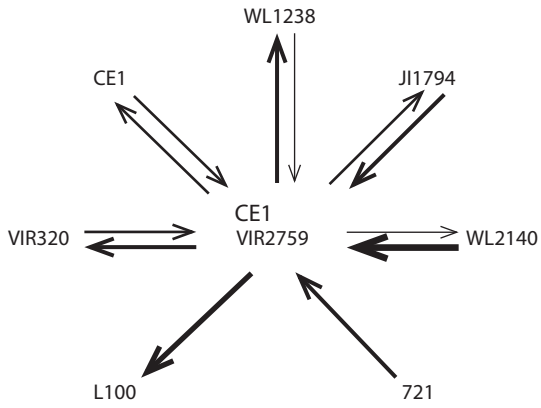


Fig. 2. Crossing efficiency (the mean number of hybrid seeds formed per cross) in reciprocal crosses of accession VIR2759 (*L. schaeferi* = *P. abyssinicum)* with seven other accessions from the basic set of pea forms of the East Mediterranean (Kosterin, Bogdanova, 2015).

Arrow thicknesses indicate four rough gradations of the crossing efficiency value: 1, less than 0.10; 2, 0.10 to 0.25; 3, 0.25 to 0.50; and 4, 0.5 to 0.8. Arrows are absent where no hybrid seeds were obtained in the corresponding direction of crosses.

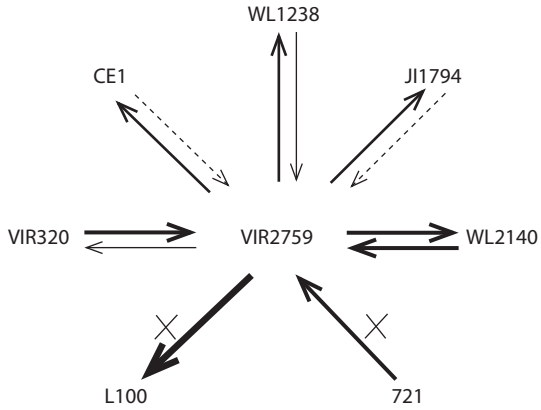


Fig. 3. The mean number of seeds per pod in reciprocal F_1 hybrids between accession VIR2759 (*L. schaeferi* = *P. abyssinicum*) and seven other accessions from the basic set of pea forms of the East Mediterranean.

Arrow thicknesses indicate four gradations of the parameter: 1, 0.02-0.07; 2, 0.3-0.7; 3, 1.0-1.2; and 4, 3.34 (the only value). Dashed arrows indicate complete absence of seeds. ╳, no hybrids formed in one of the reciprocal cross directions.

матически представлены значения параметра «эффективность скрещиваний», разбитые на четыре градации. Статистическая значимая разница (уровень значимости 0.01 %) в значении параметра «эффективность скрещиваний» между реципрокными направлениями наблюдалась в скрещиваниях с четырьмя образцами (WL2140, WL1238, L100, 721) из семи (с учетом отсутствия гибридов одного из направлений в двух случаях), причем направление различий (*P. abyssinicum* в качестве материнского либо отцовского родителя) варьировало. В свете упомянутой выше гипотезы о происхождении *P. abyssinicum* от спонтанного гибрида между *P. fulvum* и *P. sativum* subsp. *elatius* небезынтересно, что максимальное значение эффективности скрещиваний, 0.76 (23 семени на 30 скрещиваний), наблюдалось в скрещивании *P. abyssinicum* × *P. fulvum*

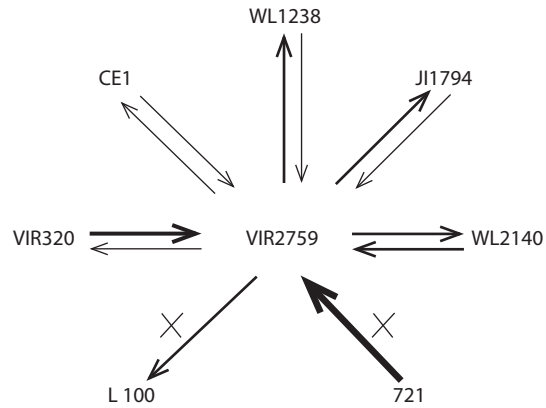


Fig. 4. Pollen fertility (the number of viable pollen grains related to the total number of grains) of reciprocal F_1 hybrids between accession VIR2759 (*L. schaeferi* = *P. abyssinicum*) and seven other accessions from the basic set of pea forms of the East Mediterranean.

Arrow thicknesses indicate four gradations of fertility: 1, ~ 1/4 (less than 33 %); 2, ~ 1/2 (from 33 to 66 %); 3, ~ 3/4 (from 66 to 90 %); and 4, full fertility (more than 90 %; the only case). ╳, no hybrids formed in one of the reciprocal cross directions.

(VIR2759 × WL2140). Этот факт был замечен и ранее, так что *P. abyssinicum* даже использовали в качестве «моста» для интрогрессии хозяйственно ценных генов от *P. fulvum* к *P. sativum* subsp. *sativum*, так как он скрещивался с обоими этими таксонами лучше, чем они между собой (Forster et al., 1999).

Почти все полученные гибриды F_1 с участием *P. abyssinicum* оказались очень низко фертильными. Гибриды VIR2759 × JI1794 и VIR2759 × CE1 вообще не дали семян, хотя цвели и образовывали многочисленные пустые бобы; из 13 гибридных растений F_1 VIR320 × 2759 только 6 дали семена (от одного до шести на растение); единственное гибридное растение WL1238 × VIR2759 дало всего два семени. Больше всего семян – в среднем 3.34 ± 0.14 на один боб – дали гибриды L100 × VIR2759. Женская фертильность реципрокных гибридов F_1 образца VIR2759 (*P. abyssinicum*) с семью другими образцами базового набора показана на рис. 3, где схематически представлены значения такого параметра, как среднее число в бобе, классифицированные в четыре условные градации. Существенные различия по данному параметру наблюдались во всех парах реципрокных гибридов, кроме *P. abyssinicum* и *P. fulvum*, реципрокные гибриды между которыми давали в среднем около одного семени на боб (0.86 ± 0.04 у гибридов VIR2759 × WL2140 и 1.02 у единственного гибридного растения WL2140 × VIR2759). В случае образцов L100 и 721 гибриды одного из реципрокных направлений отсутствовали.

На рис. 4 схематически представлены значения фертильности пыльцы (доля жизнеспособной пыльцы, оцениваемая под микроскопом после окрашивания ацетокармином по (Singh, 2003)), у полученных гибридов F_1 образца VIR2759 (*P. abyssinicum*) с семью образцами базового набора, классифицированные в четыре условные градации, отраженные толщиной стрелок. Те или иные отличия (по фертильности пыльцы или наличию гибридов) наблюдались в пяти из семи пар реципрокных

скрещиваний, кроме скрещиваний с CE1 (фертильность в обоих направлениях около 1/4) и WL2140 (фертильность на уровне 1/2). Образец VIR2759 в качестве материнского родителя дает гибриды более фертильные, чем реципрокные, в двух случаях (с WL1238 и JI1794), а в двух других случаях (с L100 и 721) гибриды получились только в этом направлении. В целом картина соотношений мужской фертильности реципрокных гибридов (см. рис. 4) напоминает картину женской фертильности, отражаемой параметром «среднее число семян на боб» (см. рис. 3). Однако по мужской фертильности *P. abyssinicum* оказывается наиболее совместимым (в качестве мужского родителя) с образцом 721, по женской фертильности (в качестве женского родителя) – с образцом L100.

Особый интерес представляют случаи высокой (3/4 и более) мужской фертильности, указывающие на образцы, наиболее совместимые с *P. abyssinicum*. Это гибриды VIR2759 × VIR320 и VIR2759 × 721. В последней комбинации скрещивания наблюдается полная фертильность пыльцы. Этот результат очень важен. Во-первых, он, возможно, указывает на представителя *P. sativum* subsp. *elatius*, наиболее родственного *P. abyssinicum*, т. е. вероятного родственника того генотипа, который участвовал в формировании *P. abyssinicum* за счет гибридизации с *P. fulvum*, если *P. abyssinicum* действительно имеет гибридогенную природу. Во-вторых, это означает, что VIR2759 и 721 не различаются ни одной реципрокной транслокацией, когда фертильность пыльцы не превысила бы 1/2 (Lamm, 1951; Lamm, Miravelle, 1959). Формально фертильность пыльцы на уровне 3/4 у гибридов VIR2759 × 320 указывает на то, что и эти образцы не различаются реципрокными транслокациями. В то же время гибриды F_1 WL1238 × VIR320 имеют полностью фертильную пыльцу, а тестерная линия WL1238 – стандартный кариотип гороха. Из этого вытекает, что выбранный нами образец *P. abyssinicum*, VIR2759, также не имеет реципрокных транслокаций по сравнению со стандартным кариотипом гороха. Следовательно, частичная стерильность пыльцы, различающаяся в парах реципрокных гибридов F_1 *P. abyssinicum* с культурным подвидом *P. sativum* subsp. *sativum* и как минимум с частью представителей дикорастущего подвида *P. sativum* subsp. *elatius*, имеет некариологическую природу.

В.С. Богданова с коллегами (Bogdanova et al., 2014) проанализировали связь фертильности пыльцы с аллельным состоянием локуса *PhlC* у гибридов F_2 от скрещивания WL1072 (тестерная линия *P. sativum*) × VIR2759 (*P. abyssinicum*), т. е. на фоне цитоплазмы *P. sativum*. У носителей материнского аллеля *PhlC* (от *P. sativum*) наблюдалось некоторое статистически значимое превышение доли жизнеспособной фертильной пыльцы по сравнению с гетерозиготами и гомозиготами по отцовскому аллелю *PhlC* (89.9, 73.0 и 74.3 % соответственно). Отметим, что эти значения существенно превышают 50 %, тем самым исключая различия по реципрокным транслокациям между VIR2759 и тестерной линией WL1072, которая также имеет стандартный кариотип. Реципрокное скрещивание не дало потомства первого поколения, поэтому связь фертильности пыльцы с аллельным состоянием *PhlC* на фоне цитоплазмы *P. abyssinicum* анализировалась в скрещивании VIR2759 с вышеупомянутыми гибридами F_2, т. е. у гибридов VIR2759 × F_2(WL1072 × VIR2759). Было обнаружено некоторое статистически значимое (с уровнем значимости 5 %) снижение доли жизнеспособной фертильной пыльцы у гетерозигот по *PhlC* по сранению с гомозиготами по отцовскому (от *P. abyssinicum*) аллелю (64.4 против 73.2 %). Таким образом, имела место слабая, но статистически значимая связь аллельного состояния *PhlC* с фертильностью пыльцы, которая была выше у носителей аллеля того же происхождения, что и цитоплазма. Внимание к локусу *PhlC* – удобному молекулярному маркеру в группе сцепления III – было обусловлено его тесным сцеплением с геном *Scs1*, предположительно кодирующим переносчик биотина и карбоксила пластидной, гетеромерной формы ацетил-коА карбоксилазы (Bogdanova et al., 2015), который является главным участником конфликта ядра и пластид со стороны ядра в скрещиваниях линии VIR320 (*P. sativum* subsp. *elatius* (Bieb.) Schmalh.) с культурным горохом (Bogdanova et al., 2012, 2015) и, по всей видимости, в других отдаленных скрещиваниях в роде *Pisum* (Bogdanova et al., 2014). Таким образом, стерильность пыльцы в отдаленных скрещиваниях с участием *P. abyssinicum* как минимум частично связана с ядерно-цитоплазматическим конфликтом.

Таксономический статус абиссинского гороха

Противоречие между морфологическим сходством и репродуктивной несовместимостью обусловило противоречивую же таксономическую трактовку абиссинского гороха. Он был описан (Braun, 1841) в ранге вида и принимался многими авторами в этом же ранге (Говоров, 1937; Ellis et al., 1998; Maxted, Ambrose, 2001; Vershinin et al., 2003; Kosterin, Bogdanova, 2008, 2015; Maxted, Kell, 2009; Jing et al., 2010; Kosterin et al., 2010; Zaytseva et al., 2012, 2015), тогда как иные авторы считают его подвидом посевного гороха *P. sativum* subsp. *abyssinicum* (A. Br.) Berger (Berger, 1928; Макашева, 1979) либо «экотипом», т. е. формой без определенного таксономического содержания (Lamprecht, 1963; Conicella, Errico, 1990). Однако в последнее время большинство авторов все же склоняется к видовому рангу абиссинского гороха.

В случае таксономической трактовки абиссинского гороха мы, казалось бы, сталкиваемся с противоречием биологической и филогенетической концепции вида. Сильнейшая репродуктивная изоляция как минимум от некоторых форм посевного гороха (Kosterin, Bogdanova, 2015) позволяет считать его видом на основании биологической концепции вида Э. Майра (1968), что уже обсуждалось в наших работах (Kosterin, Bogdanova, 2008; 2015; Zaytseva et al., 2012). Положение ветви *P. abyssinicum* гороха среди ветвей, относящихся к *P. sativum*, при наделении первого видовым рангом делает второй вид парафилетичным, что, в свою очередь, противоречит филогенетической (кладистической) классификации. Однако такое положение абиссинской ветви выявляется при анализе последовательности отдельных локусов (Ellis et al., 1998; Zaytseva et al., 2012, 2015), по всей видимости, действительно унаследованных от *P. sativum*, тогда как результаты анализа многих локусов (Jing et al., 2010) убедительно свидетельствуют о том, что абиссинский горох есть гибридогенный вид, возникший вследствие гибридизации

посевного и красно-желтого гороха. Специально отметим, что, согласно примечанию к статье H3.3 Приложения I к Международному кодексу номенклатуры водорослей, грибов и растений (International Code..., 2012), таксоны, считающиеся гибридными по происхождению, не следует обозначать как нототаксоны, таким образом, знак «×» перед видовым эпитетом в данном случае не требуется.

Однако недавние таксономические решения в трибе Fabeae (Coulot, Rabaute, 2016) привели к тому, что абиссинский горох должен получить иное латинское название. Обстоятельная работа по молекулярной реконструкции филогении трибы Fabeae на основании шести последовательностей, проведенная H. Schaefer с коллегами (2012), выявила картину, не соответствующую традиционной систематике. В частности, ветвь *Pisum*-*Vavilovia* оказалась внутри рода *Lathyrus* L., причем внутри традиционного рода *Lathyrus* роды *Pisum* и *Vavilovia* A. Fedorov находятся в одной ветви с такими видами, как *Lathyrus gloeosperma* Warb. et Eig., *L. neurolobus* Warb. et Eig. и *L. nissolia* L., традиционно относимыми к секциям *Clymenium*, *Neurolobus* и *Nissolia* соответственно. Таким образом, род *Lathyrus* (как и род *Vicia* L.) оказался парафилетическим (в то же время голофилия рода *Pisum* была подтверждена). С целью привести таксономию в соответствие с филогенией H. Schaefer с коллегами (2012) предложили включить роды *Pisum* и *Vavilovia* в состав рода *Lathyrus*, который в результате оказался бы голофилетичным, однако воздержались от публикации соответствующих номенклатурных актов.

Такие акты были опубликованы лишь в 2016 г. P. Coulot и P. Rabaut (2016) в четвертом томе обстоятельной монографии «Monographie de Leguminosae de France», где таксонам, составлявшим род *Pisum* в традиционном понимании, посвящено 10 страниц. Фактически эти авторы объединили одновременно опубликованные Линнеем и тем самым имеющие одинаковый приоритет роды *Lathyrus* L. и *Pisum* L., выбрав *Lathyrus* в качестве правильного названия рода, в соответствии со статьей 11.5 Международного кодекса номеклатуры водорослей, грибов и растений («Мельбурнский кодекс») (International Code..., 2012). Хотя включение видов рода *Pisum* в род *Lathyrus* полностью меняет привычную классификацию, убедительность филогенетической аргументации H. Schaefer с коллегами (2012) заставляет смириться с таким таксономическим решением. В частности, при этом посевной горох, всем известный как *Pisum sativum* L., получает правильное название *Lathyrus oleraceus* Lamarck, предложенное еще Ж.Б. Ламарком (Lamarck, 1779) и основанное на ином типе.

Однако номенклатурная трактовка P. Coulot и P. Rabaute (2016) не во всем соответствует действующему Международному кодексу номеклатуры водорослей, грибов и растений (International Code..., 2011). Эти авторы перенесли род *Pisum* в род *Lathyrus* в качестве секции *Lophotropis* Jaubert et Spach, для чего они предложили новую комбинацию *Pisum* L. sectio *Lophotropis* (Jaubert et Spach) H. Schaefer, Coulot et Rabaute для секции, предложенной H.-F. Jaubert и E. Spach (1842) в роде *Pisum* L., которые разбили род *Pisum* L. на две секции: *Lophotropis* Jaubert et Spach, включавшую *P. sativum* L. (тип рода *Pisum* L.) и другие горохи, и *Alophotropis* Jaubert et Spach, включавшую *Pisum formosum* (Stev.) Boiss. (в настоящее время – *Vavilovia formosa* (Stev.) A. Fed.). Однако, согласно статье Кодекса 22.2, название секции *Lophotropis* Jaubert et Spach не является действительно обнародованным, так как оно включает тип рода *Pisum*, но его эпитет не повторяет название рода. Не будучи законным названием, оно непригодно в качестве базионима новой комбинации (статьи 6.10, 12.1), следовательно, *Pisum* L. sect. *Lophotropis* (Jaubert et Spach) H. Schaefer, Coulot et Rabaute также не является действительно обнародованным. В то же время название секции *Alophotropis* Jaubert et Spach – действительно обнародованное, что, согласно статьям 6.8, 22.3 и 32.3, автоматически создало действительно обнародованный в 1842 г. автоним *Pisum* L. sect. *Pisum* (запись согласно статье 22.1) для секции, которая, согласно статье 7.6, основана на том же типе, *Pisum sativum* L., что и род *Pisum* L. Эта секция включает все таксоны рода, не отнесенные к секции *Alophotropis*, а это все таксоны, традиционно рассматриваемые в роде *Pisum* как минимум последние полвека, в частности виды *P. fulvum*, *P. sativum* и *P. abyssinicum*, признаваемые в системе N. Maxted и M. Ambrose (2001).

Это обстоятельство благоприятно, поскольку позволяет сохранить привычное название *Pisum* для гороха, хотя бы и в ранге секции. Перенесение данной секции, включающей все таксоны гороха (к каковым мы не относим *V. formosa*), в род *Lathyrus* требует опубликования новой комбинации:

Lathyrus sectio *Pisum* (L.) Kosterin combinatio nova.

Basionymum: *Pisum* L. sectio *Pisum*, autonymum creatum propter publicationem validam nominis *Pisum* L. sectio *Alophotropis* Jaubert et Spach (Illustr. Pl. Orient. 1: 91. 1842) automatice proventum.

Typus: *Pisum sativum* Linnaeus (Sp. Pl. 2:727. 1753).

Synonymum: *Pisum* Linnaeus (Sp. Pl. 2:727. 1753).

Synonyma publicata invalida mente:

Pisum L. sectio *Lophotropis* Jaubert et Spach (Illustr. Pl. Orient. 1: 91. 1842);

Lathyrus L. sectio *Lophotropis* (Jaubert et Spach) H. Schaefer, Coulot et Rabaute (Monographie de Leguminosae de France. Tome 4. Bulletin de la Société Botanique du Centre-Ouest 46: 180, 854. 2016).

Типом комбинации *Lathyrus* L. sect. *Pisum* L. остается тип линнеевского вида *Pisum sativum* L. (статьи 10.1, 10.3), несмотря на то что правильным названием этого вида в составе рода *Lathyrus* является его гетеротипный синоним *Lathyrus oleraceus* Lamarck.

P. Coulot и P. Rabaute (2016. P. 184, 854) также опубликовали новые комбинации для подвидов посевного гороха, встречающихся на территории Франции, но, к сожалению, воздержались от этого для таксонов, во Франции не встречающихся, хотя в своем обзоре и упомянули все хоть сколько-нибудь важные таксоны. В частности, в «Remarques» они упомянули и «*Pisum sativum subsp. abyssinicum* (A. Braun) Govorov (= *Pisum jomardii* Schrank)», причем среди четырех культивируемых таксонов, которые они сочли, вероятно, вслед за Л.И. Говоровым (1937), результатом вторичной интрогрессии с дикорастущими формами (Coulot, Rabaute, 2016. P. 184). Последнее справедливо лишь для абиссинского гороха (см. выше); кроме

того, синонимия с *P. jomardii* в данном случае ошибочна (Kosterin, Bogdanova, 2008; Zaytseva et al., 2016). Однако новая комбинация для абиссинского гороха предложена не была, и этот пробел приходится восполнять в данной статье. Ситуация осложняется существованием действительно обнародованного названия *Lathyrus abyssinicus* A. Br. ex Chiov., являющегося более поздним синонимом *Lathyrus sativus* L. (Campbell, 1997). Согласно статье 53.1, новая кобминация в роде *Lathyrus* с конечным эпитетом, основанным на базиониме *Pisum abyssinicum* A. Br., была бы незаконной как более поздний омоним. Поэтому для исключения омонимии при перенесении в род *Lathyrus* абиссинский горох должен получить замещающее название видового ранга согласно статьям 6.11, 11.4, 41 и 53.1. Представляется логичным назвать таксон в честь Х. Шэфера (Hanno Schaefer), который и оказался «виновником» данной «таксономической революции» в связи со своей молекулярно-филогенетической работой (Schaefer et al., 2012). Таким образом, абиссинский горох получает следующее латинское название:

Lathyrus schaeferi Kosterin nomen novum pro

Pisum abyssinicum A. Braun (Bemerkungen über die Flora von Abyssinien. 1: 269. 1841), offertur ad vitare homonymian cum *Lathyrus abyssinicus* A. Br. ex Chiov. (Atti Soc. Ital. Progr. Sci. 17: 548. 1929), quando species considerata in genus *Lathyrus* L. mota sit.

При перенесении в род *Lathyrus* таксонов, считающихся предковыми для абиссинского гороха, их правильные названия также изменяются. Дикорастущий подвид посевного гороха, известный как *Pisum sativum* L. subsp *elatius*, получил название *Lathyrus oleraceus* Lamarck subsp. *biflorus* (Rafinesque) H. Schaefer, Coulot et Rabaute (Coulot, Rabaute, 2016) с учетом номенклатурной поправки, опубликованной ранее A. Soldano (1992). Однако новой комбинации для гороха красно-желтого, известного как *Pisum fulvum* Sibthrop et Smith, опубликовано не было, поэтому предлагаем ее здесь:

Lathyrus fulvus (Sibthrop et Smith) Kosterin combinatio nova.

Basionymum: *Pisum fulvum* Sibthrop et Smith (Prodr. Fl. Graec. 2: 62, 1813).

Lathyrus schaeferi Kosterin относится к секции *Lathyrus* L. sect. *Pisum* (L.) Kosterin, поэтому, согласно статье 21A1, данное название может также записываться как *Lathyrus* (sect. *Pisum* L.) *schaeferi* Kosterin или *Lathyrus* (*Pisum*) *schaeferi* Kosterin. Поскольку обращение с русскими названиями не кодифицировано, не существует препятствий для употребления традиционного русского названия «горох абиссинский» и в дальнейшем. То же относится к латинским и русским названиям гороха посевного и гороха красно-желтого.

Напомним, что «Международный кодекс номенклатуры водорослей, грибов и растений» (International Code.., 2011), как и предшествующие версии Кодекса, не регулирует научные мнения относительно объема и ранга таксонов, которые, как любые научные суждения, определяются убедительностью и авторитетностью научной аргументации (в идеале – консенсусом ученых), а лишь определяет правила обращения с названиями уже после того, как автором приняты те или иные таксономические решения, касающиеся объема и ранга. Поэтому любой автор может продолжать придерживаться традиционной таксономической трактовки, рассматривая таксоны гороха в составе рода *Pisum* L., отдавая, однако, при этом себе отчет, что эта трактовка противоречит филогении (Schaefer et al., 2012).

Acknowledgments

This study was supported by ICG State Budgeted Project 0324-2016-0001. The author is grateful to H. Schaefer for providing literature and valuable advice and to S.L. Nikolaev for translations into Latin.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Ben-Ze'ev N., Zohary D. Species relationship in the genus *Pisum* L. Israel J. Bot. 1973;2:73-91.

Berdnikov V.A., Bogdanova V.S., Rozov S.M., Kosterin O.E. Formirovanie mnogoobraziya genov gistona H1 v khode kul'turnoy evolyutsii gorokha [Formation of the diversity of histone H1 genes in the course of cultural evolution of pea]. Vavilovskoe nasledie v sovremennoy biologii [Vavilovian heritage in contemporary biology]. Moscow: Nauka Publ., 1989;72-89. (in Russian)

Berdnikov V.A., Bogdanova V.S., Rozov S.M., Kosterin O.E. Geographic patterns of histone H1 allelic frequencies formed in the course of *Pisum sativum* L. (pea) cultivaion. Heredity. 1993;71:199-209. DOI 10.1038/hdy.1993.125.

Berger A. Systematic botany of peas and their allies. The Vegetables of New York. V. 1. Part 1. Albany. Ed. U. Hedrick. 1928;1:10-18.

Bogdanova V.S. Inheritance of organelle DNA markers in a pea cross associated with nuclear-cytoplasmic incompatibility. Theor. Appl. Genet. 2007;114:333-339. DOI 10.1007/s00122-006-0436-6.

Bogdanova V.S., Berdnikov V.A. Observation of the phenomenon resembling hybrid dysgenesis in a wild pea subspecies *Pisum sativum* ssp. *elatius*. Pisum Genet. 2001;33:5-8.

Bogdanova V.S., Kosterin O.E. A case of anomalous chloroplast inheritance in crosses of garden pea involving an accession of wild subspecies. Doklady Akademii nauk = Reports of the Russian Academy of Sciences. 2006;406(2):256-259. DOI 10.1134/S0012496606010121. (in Russian)

Bogdanova V.S., Galieva E.R., Kosterin O.E. Genetic analysis of nuclear-cytoplasmic incompatibility in pea associated with cytoplasm of an accession of wild subspecies *Pisum sativum* subsp. *elatius* (Bieb.) Schmalh. Theor. Appl. Genet. 2009;118:801-809. DOI 10.1007/s00122-008-0940-y.

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. DOI 10.1007/s00122-012-1804-z.

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. DOI 10.1007/s00122-014-2288-9.

Bogdanova V.S., Zaytseva O.O., Mglinets A.V., Shatskaya N.V., Kosterin O.E., Vasiliev G.V. Nuclear-cytoplasmic conflict in pea (*Pisum sativum* L.) is associated with nuclear and plastidic candidate genes encoding Acetyl-CoA carboxylase subunits. PLoS ONE. 2015;10:e0119835. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0119835.

Braun A. Bemerkungen über die Flora von Abyssinien. Flora Oder Allgemeine Botahische Zeitung. 1841;1:257-288.

Campbell C.G. Grass Pea, *Lathyrus sativus* L. Rome: International Pland Genetic Resource Institute, 1997.

Conicella C., Errico A. Karyotpe variations in *Pisum sativum* ect. *abyssinicum*. Caryologia. 1990;43:87-97. http://dx.doi.org/10.1080/00087114.1990.10796989.

Coulot P., Rabaute P. Monographie de Leguminosae de France. 4. Tribus des Fabeae, des Cicereae et des Genisteae. Bulletin de la Société Botanique du Centre-Ouest. 2016;46:1-902.

Drozd A.M. Remote crosses in peas. Trudy po prikl. botan., genet., and selektsii = Bull. Appl. Bot., Genet. Plant Breeding. 1965;37(2):130-146. (in Russian)

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. Gen. Genet. 1998;260:9-19. DOI 10.1007/PL00008630.

Elvira-Recuenco M., Bevan J.R., Taylor J.D. Differential responses to pea bacterial blight in stems, leaves and pods under glasshouse and field conditions. Eur. J. Plant Pathol. 2003;109:555-564. DOI 10.1023/A:1024798603610.

Forster C., North H., Afzal N., Domone C., Hornostaj A., Robinson D.S., Casey R. Molecular analysis of a null mutant for pea (*Pisum sativum* L.) seed lipoxygenase-2. Plant Mol. Biol. 1999;39:1209-1220. DOI 10.1023/A:1006173313548.

Govorov L.I. Peas of Abyssinia. Trudy po prikl. botan., genet., and selektsii = Bull. Appl. Bot., Genet. Plant Breeding. 1930;24(2):399-431. (in Russian)

Govorov L.I. Kulturnaya Flora SSSR [Cultivated flora of the USSR]. T. IV. Zernovye bobovye [V. 4. Grain legumes]. Moscow, State Publishing House of State Farm and Collective Farm Literature. 1937;IV:229-336. (in Russian)

Hollaway 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. http://dx.doi.org/10.1071/AR06384.

International Code of Nomenclature for Algae, Fungi, and Plants (Melbourne Code). Oberreifenberg: Koeltz Scientific Books, 2012.

Jaubert H.-F., Spach E. Illustrationes Plantarum Orientalium. Tomus 1. Parisiis: Roret bibliopolam, 1842.

Jing R., Vershinin A., Grzebota 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 Evol. Biol. 2010;10:44. DOI 10.1186/1471-2148-10-44.

Kosterin O.E. Pea (*Pisum sativum* L.): the uneasy fate of the first genetical object. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(1):13-26. DOI 10.18699/VJ15.002. (in Russian)

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. DOI 10.1007/s10722-007-9281-y.

Kosterin O.E., Bogdanova V.S. Efficiently of hand pollination in different pea (*Pisum*) species and subspecies. Ind. J. Genet. Plant Breeding. 2014;74:50-55. DOI 10.5958/j.0975-6906.74.1.007.

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. Resour. Crop Evol. 2015;62:691-709. DOI 10.1007/s10722-014-0189-z.

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. *elatuis* (Beib.) Schmalh. Genet. Res. Crop. Evol. 2010;57:733-739. DOI 10.1007/s10722-009-9511-6.

Lamarck J.B. de. Flore Françoise, ou Description Succinte de Toutes des Plantes qui Croiffent Naturellement en France. Paris, 1779.

Lamm R. Cytogenetical studies on translocations in *Pisum*. Hereditas. 1951;37:356-372. DOI 10.1111/j.1601-5223.1951.tb02899.x.

Lamm R., Miravalle R.J. A translocation tester set in *Pisum*. Hereditas. 1959;45:417-440. DOI 10.1111/j.1601-5223.1959.tb03059.x.

Lamprecht H. Zur Kenntnis von *Pisum arvense* L. oect. *abyssinicum* Braun, mit genetischen und zytologischen Ergebnissen. Agri. Hort. Genet. 1963;21:35-55.

Lamprecht H. Partielle sterilitat und chromosomenstruktur bei *Pisum*. Agri. Hort. Genet. 1964;22:56-138.

Makasheva R.Kh. Kul'turnaya flora SSSR [Cultivated Flora of the USSR]. T. IV. Zernovye bobovye kul'tury [Grain legumes]. Ch.1. Gorokh [Part 1. Pea]. Leningrad, Kolos Publ., 1979. (in Russian)

Maxted N., Ambrose M. Peas (*Pisum* L.). Eds. N. Maxted, S.J. Bennett. Plant Genetic Resources of Legumes in the Mediterranean Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture. Dordrecht: Kluwer Acad. Publ. 2001; 39:181-190.

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. DOI 10.1023/B:BIOC.0000011719.03230.17.

Mayr E. Animal species and evolution. Cambridge, MA, The Belknap Press of Harvard University Press, 1966.

Rosen von D. Artkeuzungen in der gattung *Pisum*. insbesondere zwischen *P. sativum* L. und *P. abyssinicum* Braun. Hereditas. 1944;30:261-392.

Saccardo F. Crosses among *Pisum* species. Pisum Newslett. 1971;3:38.

Schaefer H., Hechenleitner P., Santos-Guerra A., Menezes de Sequeira M., Pennington R.T., Kenicer G., Carine M.A. Systematics, biogeography, and character evolution of the legume tribe Fabeae with special focus on the middle-Atlantic island lineages. BMC Evol. Biol. 2012;12:250. DOI 10.1186/1471-2148-12-250.

Singh R.J. Plant Cytogenetics. Boca Raton: CRC Press, 2003.

Sobolev N.A., Agarkova S.N. Otdalennaya gibridizatsiya v rode *Pisum* L. [Remote Hybridisation in the Genus *Pisum* L.] Genetika i selektsiya gorokha [Pea genetics and breeding]. Novosibirsk, Nauka Publ., Siberian Branch, 1975;141-160. (in Russian)

Soldano A. Riproposizione di taxa sottospecifici prioritari dovuti a botanici italiani. Natura Bresciana (Ann. Mus. Civ. Sci. Nat., Brescia). 1992;27(1990-1991):51-56.

Takhtadzhyan A.L. Floristicheskie oblasti Zemli [Floristic regions of the Earth]. Leningrad, Nauka Publ., 1978. (in Russian)

The Pisum-Genebank. Origin Listing of Weibullsholm collection. Weibullsholm Plant Breeding Institute, Landscrona, Sweden, 1984.

Vershinin A.V., Allnutt 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. DOI 10.1093/molbev/msg220.

Weeden N.F. Genetic changes accompahying the domestication of *Pisum sativum*: is there a common genetic basis to the 'domestication syndrome' for legumes? Ann. Bot. 2007;100:1017-1025. DOI 10.1093/aob/mcm122.

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. http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2012.05.026.

Zaytseva O.O., Bogdanova V.S., Mglinets A.V., Kosterin O.E. Refinement of the collection of wild peas (*Pisum* L.) and search for the area of pea domestication with a deletion in the plastidic *psbA-trnH* spacer. Genet. Resour. Crop. Evol. 2016. E-publication ahead of print. DOI 10.1007/s10722-016-0446-4.

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. http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2014.11.062.

Zhukovskiy P.M. Kul'turnye rasteniya i ikh sorodichi: sistematika, geografiya, ekologiya, proiskhozhdenie, ispol'zovanie [Cultivated plants and their relatives: taxonomy, geography, ecology, origin, and use]. Moscow, Kolos Publ., 1964. (in Russian)

Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):170-179
DOI 10.18699/VJ16.18-o

Фенотипическое разнообразие местных сортов нута (*Cicer arietinum* L.) из центров происхождения культуры, сохраняемых в коллекции ВИР

М.А. Вишнякова[1] ✉, М.О. Бурляева[1], С.В. Булынцев[2], И.В. Сеферова[1], Е.С. Плеханова[3], С.В. Нуждин[4]

[1] Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова» (ВИР), Санкт-Петербург, Россия
[2] Филиал Кубанская опытная станция Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова» (ВИР), Краснодарский край, Россия
[3] Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», Санкт-Петербург, Россия
[4] Отдел молекулярной и количественной биологии, Колледж естественных наук им. Дорнсайф, Университет Южной Калифорнии, Лос-Анджелес, Калифорния, США

Местные сорта – ценный генофонд, который может послужить источником аллелей генов адаптивности для интрогрессии в современные сорта. В коллекции нута ВИР 3380 образцов, большую часть которых представляют местные сорта. Цель исследования – изучить фенотипическое разнообразие старых местных сортов нута, сохраняемых в коллекции ВИР. Осуществлен анализ изменчивости 11 биологических, морфологических и хозяйственно ценных признаков у 1082 местных сортов нута, происходящих из 60 стран. Более детально (по 15 признакам) изучены образцы из мест происхождения культуры: 75 местных сортов из Турции (первичного центра) и 24 из Эфиопии (вторичного центра), собранных 90 лет назад. Осуществлен факторный анализ. Выявлена географическая приуроченность некоторых признаков у изученных образцов. Образцы из Эфиопии были достаточно однородны и характеризовались примитивностью признаков, носящих доминантный характер. Они относятся к абиссинской (*abyssinicum*) эколого-географической группе разновидностей – уникальной и эндемичной для Эфиопии. Образцы из Турции отличались большим разнообразием: к ним применимы все градации признаков, описанные в дескрипторах нута. Наряду с образцами, типичными только для Турции, на ее территории собраны также образцы, характерные для западного Средиземноморья и для территорий, примыкающих к стране на востоке. В соответствии с эколого-географической классификацией, они относятся к трем группам разновидностей: *turcicum*, *hispanicum* и *afghanicum*. Меньшая степень изменчивости и примитивность большинства признаков, а также низкая семенная продуктивность у эфиопских местных сортов по сравнению с турецкими свидетельствуют о большей селекционной продвинутости последних. Образцы из обоих центров происхождения нута имеют полезные признаки для селекции.

Ключевые слова: нут (*Cicer arietinum* L.); центры происхождения; фенотипы; генетические ресурсы растений; изменчивость; факторный анализ; признаки для селекции.

Phenotypic diversity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) landraces accumulated in the Vavilov collection from the centers of the crop origin

M.A. Vishnyakova[1] ✉, M.O. Burlyaeva[1], S.V. Bulyntsev[2], I.V. Seferova[1], E.S. Plekhanova[3], S.V. Nuzhdin[4]

[1] Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St.-Petersburg, Russia
[2] Kuban Experiment Breeding Station, Branch of Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), Krasnodar region, Russia
[3] Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Saint-Petersburg, Russia
[4] Molecular and Computation Biology Section of Dornsife College, University of Southern California, Los Angeles, USA

Landraces represent a valuable gene pool as a source for introgression of genes of adaptability to modern varieties. The VIR chickpea collection contains 3380 accessions, most of which are landraces. The purpose of the paper is to investigate the phenotypic diversity of old chickpea landraces stored in VIR collection. An analysis of the variability of 11 biological, morphological and economically valuable traits in 1082 chickpea landraces originating from 60 countries has been carried out. Further accessions from the places of chickpea origin were studied in more detail (with 15 traits analyzed): 75 landraces from Turkey (primary center) and 24 from Ethiopia (secondary center) collected 90 years ago. Interrelations between the traits were studied using component analyses. Geographic regularities of certain traits in the studied accessions have been revealed. The accessions from Ethiopia were fairly uniform, revealing primitive and dominant character traits. They belong to the Abyssinicum eco-geographical group of varieties, absolutely unique and endemic to Ethiopia. The Turkish landraces are characterized by a much higher diversity for the majority of phenotypes, covering almost the entire range of traits specified in chickpea descriptors. In this region, together with landraces typical of Turkey, there are those characteristic of the western Mediterranean and

Received 04.08.2016
Accepted for publication 27.11.2016
Online 05.12.2016
© AUTHORS, 2017

✉ e-mail: m.vishnyakova@vir.nw.ru

areas bordering Turkey to the east. In accordance with the eco-geographical classification, they fall into three groups of varieties: *turcicum*, *hispanicum* and *afghanicum*. A lesser degree of variability and a more primitive character of traits, as well as lower seed productivity in Ethiopian than Turkish landraces show greater breeding advancement of the latter. Useful traits for breeding are present in the landraces from both centers of origin.

Key words: chickpea (*Cicer arietinum* L.); centers of origin; phenotypes; plant genetic resources; variability; component analyses; traits for breeding.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Вишнякова М.А., Бурляева М.О., Булынцев С.В., Сеферова И.В., Плеханова Е.С., Нуждин С.В. Фенотипическое разнообразие местных сортов нута (*Cicer arietinum* L.) из центров происхождения культуры, сохраняемых в коллекции ВИР. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):170-179. DOI 10.18699/VJ16.18-o

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Vishnyakova M.A., Burlyaeva M.O., Bulyntsev S.V., Seferova I.V., Plekhanova E.S., Nuzhdin S.V. Phenotypic diversity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) landraces accumulated in the Vavilov collection from the centers of the crop origin. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(2):170-179. DOI 10.18699/VJ16.18-o

Нут (*Cicer arietinum* L.) – древняя зернобобовая культура, имеющая большое экономическое значение. По площади посева в мировом земледелии нут занимает третье место среди зерновых бобовых, уступая только сое и фасоли. Нут – ценный источник растительного белка примерно для 30 % населения в мире, особенно в странах Юго-Западной Азии и Северной Африки (Afshin et al., 2014). В Российской Федерации в настоящее время нут стал значимой экспортной культурой, что выражается в росте посевных площадей и расширении ареала возделывания. Питательная ценность нута, семена которого содержат от 14.0 до 31.7 % белка и множество необходимых микронутриентов (Вишнякова, 2016), делает его перспективной культурой и на внутреннем рынке. В настоящее время в стране районирован 21 сорт нута. При возрастающем спросе на культуру необходимо создание новых высоко адаптивных сортов, селекционное улучшение которых должно быть направлено, в частности, на толерантность к засухе, устойчивость к болезням, особенно к аскохитозу. Скороспелость является признаком, актуальным для многих регионов производства нута.

Современная селекция значительно сузила историческое разнообразие культивируемого нута (Abbo et al., 2003). Для расширения генетической основы современных сортов необходимо привлечение в селекцию разнообразного исходного материала. В коллекции ВИР, которая служит постоянным источником материала для селекции не только в России, но и за рубежом, 3380 образцов нута. Более половины коллекции представляют местные сорта. Это богатый генофонд для поиска высоко адаптивных генотипов. Местные сорта обычно обладают большей фенотипической и генотипической изменчивостью, чем коммерческие сорта, а также толерантны к биотическим и абиотическим стрессорам (Veteläinen et al., 2009). Интрогрессия генетического материала из местных сортов в современные коммерческие сорта с помощью маркер-опосредованной селекции может быть радикальным путем их улучшения. Поэтому изучение фенотипической изменчивости местных сортов по ряду селекционно-значимых признаков и поиск генов-кандидатов, определяющих эту изменчивость, актуальны для понимания динамики селекции в исторической перспективе и расшифровки ее механизмов.

Центром происхождения нута считают юго-восточную Турцию и примыкающие к ней территории Сирии и Ирана (Harlan, 1992). Полагают, что нут впервые стали культивировать и употреблять в пищу 7500–6800 лет до нашей эры на юго-востоке Турции в Чайоню (van Zeist, Bottema, 1972) и 5450 лет до н. э. в Центральной Турции в Хациляре (van der Maesen, 1984). Н.И. Вавилов (1926) считал первичным центром происхождения нута юго-западную Азию и Средиземноморье, а вторичным центром – Эфиопию. Принято считать, что в районе Плодородного полумесяца, в частности в современной Анатолии и восточном Средиземноморье, нут возник во времена неолита, в то время как в Эфиопии он впервые появился в Железном веке (Redden, Berger, 2007).

Согласно Н.И. Вавилову, существует четыре центра разнообразия нута: Средиземноморье, Центральная Азия, Ближний Восток и Индия (Vavilov, 1951). Более современные концепции, учитывающие наличие у нута двух типов семян – дези и кабули, предлагают различать пять центров разнообразия культуры: 1) бассейн Средиземноморья – для белосемянных форм кабули-типа; 2) Центральная Азия; 3) Западная Азия как вторичный центр для промежуточных форм между дези и кабули; 4) Индийский субконтинент для окрашенных семян дези-типа и 5) Эфиопия как вторичный центр для дези-типа (van der Maesen, 1984).

В коллекции ВИР сохраняется уникальный материал – старые местные сорта нута почти вековой давности из центров происхождения. В настоящее время такие сорта в большинстве своем исчезли из мест прежнего произрастания в результате замены их современными коммерческими сортами, из-за природных катаклизмов, урбанистических, техногенных и других факторов, стремительно изменяющих современный мир. Старые местные сорта из центров происхождения культуры собраны в экспедициях и привезены российскими учеными.

Цель данной работы – изучение фенотипического разнообразия местных сортов из центров происхождения нута на основе анализа изменчивости признаков растений.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили 1 082 местных сортов нута из коллекции ВИР, проанализированных по 11 признакам в течение 1996–2004 гг. в Астраханской области (Россия). Эта выборка репрезентативно отражает мировое разнообразие возделывания нута, так как включает образцы из 60 стран – производителей этой культуры. В числе этих образцов были и местные сорта из центров происхождения нута.

Более детально 75 образцов из Турции и 24 образца из Эфиопии (Абиссинии) были изучены нами по 15 признакам в полевых условиях в 2002–2005 гг. в Сирии в Международном центре сельскохозяйственных исследований в засушливых регионах (ICARDA) – в районе, расположенном в сравнительной близости к очагам происхождения культуры (табл. 1). Одним из главных признаков дифференциации генофонда нута является тип семян: дези и кабули. Семена дези-типа – мелкие, угловатые, имеют окрашенную семенную оболочку от кремового до черного цвета. Семена кабули-типа – крупные, округлые, светлоокрашенные. Иногда различают и третий тип семян – гороховидный, характеризующийся средними и мелкими семенами и кремовой окраской семенной кожуры (Pundir et al., 1988). Поскольку этот тип отражен не во всех дескрипторах нута, мы ограничились двумя основными – дези и кабули.

Турецкие образцы представляют собой экспедиционные сборы П.М. Жуковского в 1927 г. Эфиопские образцы собраны Н.И. Вавиловым в 1927 г., а также экспедициями ВИР в 1962 и 1970 гг.

Самая южная точка сбора находилась в Эфиопии в районе Аддис-Абебы (09°00′ с. ш. и 38°45′ в. д.), самая северная – на севере Турции в районе г. Кастамону (41°54′ с. ш., 33°00′ в. д.). Восточные пределы сборов – г. Харар Эфиопского нагорья, на высоте 1 800 м над у. м. (09°18′ с. ш. и 42°07′ в. д.), западные – у г. Маниса, расположенного недалеко от побережья Эгейского моря (38°45′ с. ш., 28°00′ в. д.) в Турции.

Полевую оценку осуществляли в соответствии с Международным дескриптором нута (Descriptors for chickpea…, 1993), по методикам, принятым в ВИР (Вишнякова и др., 2010) и Международном институте исследования сельскохозяйственных культур полуаридных тропиков (ICRISAT) (Pundir et al., 1988).

Посев в Сирии проводили в феврале, уборку – в августе. В Астраханской области посев в зависимости от погоды

Table 1. Traits studied

Designations of traits		Traits evaluated
in 1082 accessions studied in the Astrakhan region	in 99 accessions studied in Syria	
ab		Ascohyta susceptibility (score)
	byld	Biological yield (dry weight of plant with seeds and roots), g
	caw	Canopy width, cm
dflr	dflr	Seedling to flowering interval, days
dmat	dmat	Seedling to maturity interval, days
	fdu	Flowering duration, days
	fgc	Flower color score
grh	grh	Growth habit (procumbent, sprawling, or upright) score
	hi	Harvest index, %
hlp	hlp	First pod height (height of lowest pod attachment), cm
	ppp	Number of pods per plant
	ptht	Plant height (leading shoot height), cm
sc		Seed color score
ssh		Seed shape (angular / rounded) score
sw		1 000-seed weight, g
	spp	Number of seeds per plant
	styld	Dry weight without seeds, g
styp	styp	Seed type score
syld	syld	Seed weight per plant, g
yst		Seed yield from the plot as a percentage of a standard variety

приходился на период 20 апреля – 10 мая, уборку проводили в конце июля – августе.

Образцы сеяли рендомизированным методом в двукратной повторности. Ширина междурядий 60–70 см, расстояние между семенами 10 см. Анализировали по шесть растений каждой повторности.

Статистический анализ. Расчеты сделаны с помощью статистического пакета программ Statistica 7.0 для Windows.

Изменчивость структуры взаимосвязей признаков оценивали с помощью факторного анализа. Факторные нагрузки рассчитывали по методу главных компонент и выражали в коэффициентах корреляций с фактором. Значения коэффициента корреляции $r < 0.5$ рассматривались как низкие, $0.7 > r \geq 0.5$ – средние, $0.9 > r \geq 0.7$ – высокие, а $r \geq 0.9$ как очень сильные (Sokal, Rohlf, 1995; Ивантер, Коросов, 2003). Кроме того, были рассчитаны собственные значения для каждого фактора, доля факторов в общей дисперсии и совокупная (кумулятивная) доля извлекаемых факторов. Выбор числа оптимальных факторов осуществляли с помощью критерия каменистой осыпи (StatSoft Inc, 2013).

Результаты

По результатам оценки в Астраханской области 1082 образцов провели их анализ по географическому происхождению. Для удобства исследования страны происхождения разделили на 12 групп по принципу географической близости (рис. 1, *а*). Образцы из Турции и Эфиопии выделили в самостоятельные группы (см. рис. 1, *б*). Факторный анализ всех образцов, изученных по 11 признакам (признак принадлежности образцов к группам дези и кабули статистически не обрабатывался) в Астраханской области, выявил три фактора, описывающих 51 % общей изменчивости признаков (табл. 2).

Фактор 1 (F1 – 25.0 % дисперсии) выявил положительную взаимосвязь между показателями продуктивности растения, размером семян (массой 1000 шт.) и высотой прикрепления первого боба. В отрицательной связи с этими признаками оказался признак окраски семян. Таким образом, среди изученных образцов растения со светлыми крупными семенами и высоким расположением бобов отличаются наибольшей продуктивностью.

Фактор 2 (F2 – 15.0 % дисперсии) можно назвать фактором характеристики семян. В этом факторе оказались отрицательно зависимыми признаки формы и окраски семенной кожуры. Темноокрашенные семена преимущественно имеют угловатую форму, а светлоокрашенные – округлую. Следует отметить, что в данном факторе с не очень высокой, но значимой факторной нагрузкой находится признак поражаемость растений аскохитозом.

Фактор 3 (F3 – 11.0 % дисперсии) включал в себя признаки тип куста, период «всходы–созревание», продуктивность растения. Наблюдалась отрицательная взаимосвязь между продолжительностью вегетационного периода и признаками продуктивности растения, а также типом куста.

Интересно отметить, что продуктивность растения связана с двумя факторами: F1, включающим массу 1000 семян, и F3, взаимосвязанным с продолжительностью вегетационного периода, что свидетельствует о том, что наиболее продуктивными являются крупносемянные и позднеспелые образцы.

Поскольку два первых фактора характеризуют большую часть изменчивости признаков, мы рассматривали расположение образцов только в их пространстве (см. рис. 1, *а*).

Результаты свидетельствуют о том, что образцам индийской, восточно-африканской и эфиопской групп присущи мелкие размеры семян, их угловатая форма и темная окраска, а также низкая продуктивность растений. В факторном пространстве на рис. 1, *а* они расположились вверху справа. При этом образцы из Эфиопии близки к образцам из Индии и обнаруживают сравнительную однородность. По признакам семян это в основном образцы группы дези. В противоположной части графика (см. рис. 1, *а*) сгруппировались образцы, характеризующиеся светлыми семенами округлой формы и высокой семенной продуктивностью растений – преимущественно кабули-типа. Это образцы из восточной части Европы и Средиземноморья. Образцы из Турции, Средней Азии и Кавказа отличались большой вариабельностью по сочетанию исследуемых признаков и образовали в факторном пространстве довольно большое и разреженное облако, объединяющее оба типа семян. На рис. 1, *б* цветом выделены только образцы из Турции и Эфиопии для более наглядного обозначения их места в общем генофонде местных сортов в коллекции ВИР.

Поскольку особый интерес для нас представляли старые местные сорта из районов происхождения нута – Турции (первичный центр) и Эфиопии (вторичный центр), мы осуществили более детальный анализ таких образцов из коллекции ВИР по большему числу селекционно-значимых признаков в условиях Сирии. Там, как отмечено выше, было изучено 75 турецких и 24 эфиопских образца по 15 признакам (см. табл. 1).

При анализе средних значений и степени варьирования признаков (CV) эфиопские образцы показали более узкие границы изменчивости большинства изученных признаков по сравнению с турецкими. Самыми варьирующими признаками в обеих группах были число семян (CV = 70.4 %) и число бобов с растения (CV = 63 %) у эфиопских образцов и 62.6 и 62.2 % – у турецких. Однако такие признаки, как окраска и тип семян, продолжительность межфазных периодов «всходы–цветение» и «всходы–созревание», высота растения, были у эфиопских образцов менее вариабельны. Образцы из Эфиопии были более скороспелыми, низкорослыми, с низким прикреплением нижнего боба, по сравнению с турецкими, имели большее число бобов и семян с растения и при этом низкую семенную продуктивность, что свидетельствует о более крупных семенах у турецких образцов (табл. 3).

По форме семян эфиопские образцы на 96 % относились к дези-типу, в то время как у турецких большая часть – 57 % образцов – отнесена к кабули-типу.

Эфиопские образцы имели рыжие, коричневые и черные семена, и только один образец из изученных был белосемянным, в то время как у турецких образцов белосемянными были около половины, по 15 % имели семенную кожуру розового и коричневого цвета, для остальных

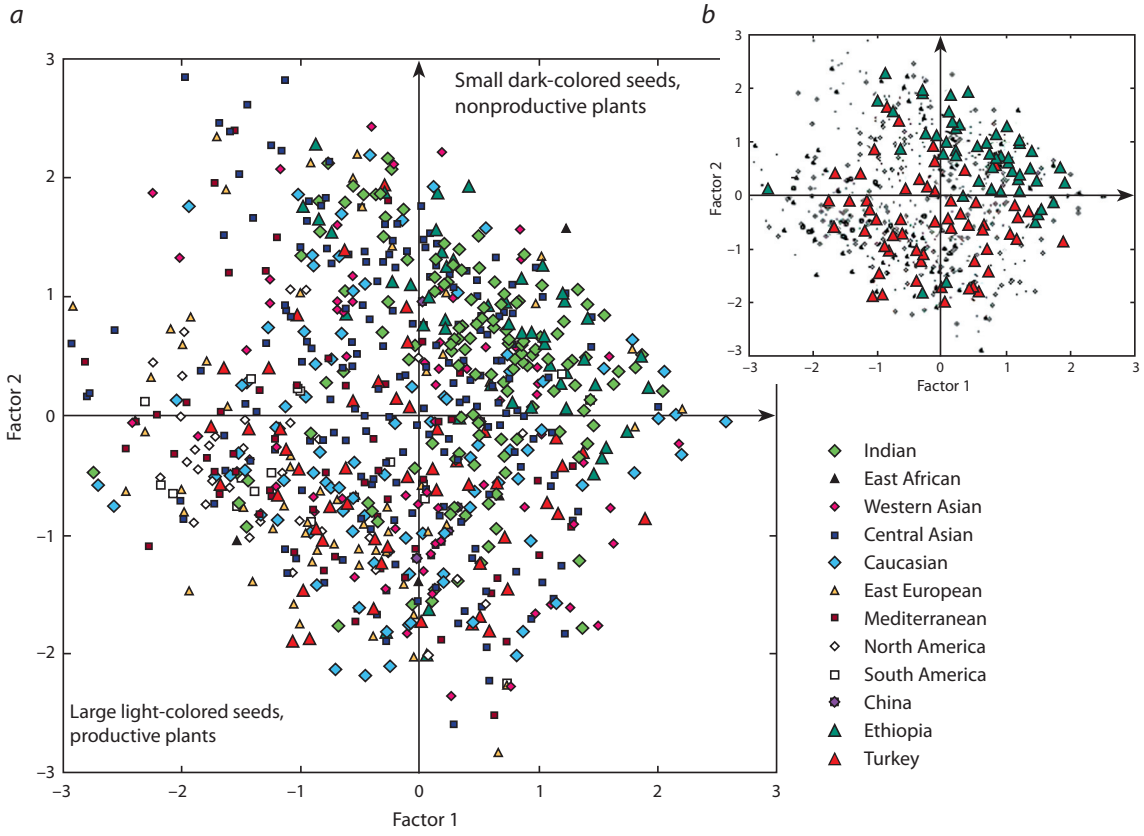


Fig. 1. Distribution of accessions in the space of the first two factor. Factor loads are calculated for 10 traits on the base of examination of 1082 local chickpea varieties from the VIR collection.

Groups of accessions of common origin are shown with colors: a, all groups examined; b, accessions from Turkey and Ethiopia.

Table 2. Factor analysis of 11 traits for 1082 chickpea landraces of different geographic origins

Traits	Factor loads of principal components, $p < 0.05$		
	Factor 1	Factor 2	Factor 3
Seed color	0.52	0.69	–0.02
Seed shape (angular / rounded)	–0.46	–0.72	–0.21
Bush type	–0.24	–0.05	–0.43
Height of lowest pod attachment	–0.63	0.21	–0.39
1000-seed weight	–0.55	–0.36	0.23
Seedling to flowering interval, days	–0.29	–0.13	–0.29
Seedling to maturity interval, days	–0.49	0.27	–0.48
Seed weight per plant	–0.67	0.37	0.50
Seed yield from the plot as a percentage of a standard variety	–0.75	0.32	0.43
Ascohyta susceptibility	0.42	–0.43	0.25
Eigenvalue	2.75	1.67	1.24
% total variance	25.0	15.0	11.0
% cumulative proportion of variance	25.0	40.0	51.0

были характерны все оставшиеся в дескрипторе категории окрасок семян нута, кроме черной.

Факторный анализ изменчивости 15 признаков турецких и эфиопских образцов при изучении в Сирии выявил пять факторов, описывающих 78.9 % общей дисперсии признаков (табл. 4).

Фактор 1 (F1 – 30.0 % дисперсии) выявил положительную взаимосвязь между показателями сухой массы рас-

Table 3. Descriptive statistics for the accessions from Ethiopia and Turkey studied in Syria

Traits	Ethiopia				Turkey			
	Mean	min	max	CV, %	Mean	min	max	CV, %
Seedling to flowering interval, days	108.1	100.0	119.0	5.9	106.4	96.5	140.0	9.1
Canopy width, cm	54.9	39.0	72.0	13.7	63.5	43.5	91.0	13.6
Flowering duration, days	27.8	18.0	31.0	11.0	25.9	9.0	34.0	15.6
First pod height, cm	21.0	13.0	30.0	23.1	28.8	20.0	41.0	13.1
Plant height, cm	46.8	40.0	53.0	10.3	54.2	38.0	70.0	12.7
Growth habit score	2.5	2.0	3.0	20.5	2.7	1.0	4.0	19.3
Flower color score	4.1	4.0	6.0	11.3	5.3	1.0	6.5	20.1
Seed shape score	1.0	1.0	2.0	20.4	1.6	1.0	2.0	31.6
Seedling to maturity interval, days	157.1	149.0	166.0	2.6	164.1	129.0	183.0	5.3
Number of pods per plant	64.5	18.3	147.0	63.0	33.3	12.7	142.0	62.2
Plant dry weight, including seeds and roots, g	38.2	18.1	51.1	21.9	5.4	1.9	11.6	29.0
Seed weight per plant, g	17.4	6.9	25.8	28.6	20.9	11.4	52.1	33.5
Dry weight without seeds, g	20.8	10.7	32.3	27.1	33.5	5.5	65.2	31.9
Harvest index, %	45.5	24.3	59.6	19.4	40.9	26.0	72.1	16.6
Seeds per plant	81.4	18.0	196.0	70.4	34.1	13.0	145.0	62.6

CV, coefficient of variation.

Table 4. Factor analysis of traits in 99 chickpea accessions from Ethiopia and Turkey

Trait	Factor loads of principal components, $p < 0.05$				
	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5
Flowering duration, days	–0.20	–0.24	–0.18	0.77	0.30
Seedling to flowering interval, days	–0.05	–0.73	0.29	–0.42	0.02
Canopy width, cm	0.52	–0.03	–0.11	0.37	0.21
First pod height (height of the lowest pod attachment), cm	0.76	0.01	–0.29	–0.40	0.17
Plant height, cm	0.67	–0.31	–0.27	–0.20	0.37
Growth habit, score	0.11	–0.26	–0.02	0.22	–0.77
Flower color, score	0.66	0.20	0.57	0.13	-0.06
Seed type, score	0.64	0.18	0.66	0.17	–0.06
Seedling to maturity interval, days	0.47	–0.36	0.55	–0.06	0.21
Number of pods per plant	–0.45	–0.78	0.16	0.12	0.17
Dry weight of a plant with seeds and roots, g	0.69	–0.55	–0.24	0.08	–0.20
Seed weight per plant, g	0.32	–0.77	–0.21	–0.03	–0.20
Dry weight without seeds, g	0.81	–0.32	–0.19	0.19	–0.11
Harvest index, %	–0.56	–0.40	0.07	–0.19	–0.18
Seed number per plant	–0.53	–0.72	0.21	0.13	0.18
Eigenvalue	4.45	3.24	1.56	1.32	1.13
% total variance	30.00	22.00	10.40	8.80	7.50
% cumulative proportion of variance	30.00	52.00	62.40	71.40	78.90

тения с семенами и без них с высотой растения и высотой прикрепления нижнего боба, окраской цветка и типом семян и отрицательную – с уборочным индексом. Этот фактор можно интерпретировать как фактор вегетативного развития растения или способности к росту и развитию, накоплению массы.

Фактор 2 (F2 – 22.0 % дисперсии) можно назвать фактором потенциальной семенной продуктивности. Он

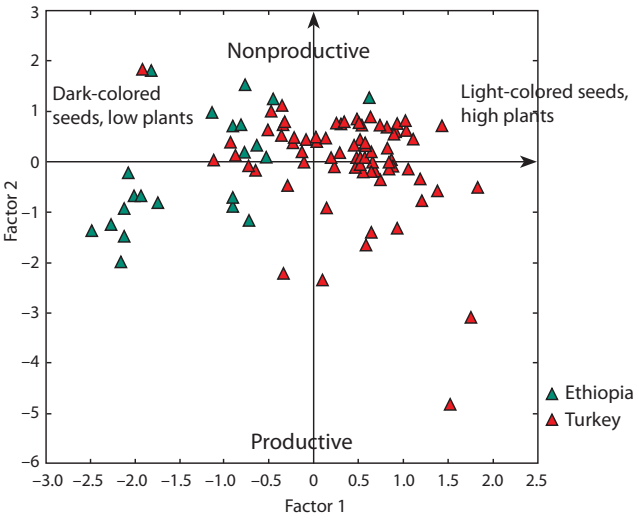


Fig. 2. Distribution of Turkish and Ethiopian accessions studied in Syria in the space of the first two factors.

включает признаки: число бобов на растении, сухая масса растения с семенами, масса и число семян с растения, продолжительность периода «всходы–цветение».

Фактор 3 (F3 – 10.4 % дисперсии) включал признаки: окраска цветка, период «всходы–созревание», тип семян. Его можно условно назвать фактором, выявляющим дифференциацию образцов по типу семян – дези и кабули.

Фактор 4 (F4 – 8.8 % дисперсии) включал продолжительность периодов «всходы–цветение», отрицательно взаимосвязанные с признаками цветение и высота прикрепления нижнего боба. То есть образцы с низким прикреплением бобов отличались коротким периодом «всходы–цветение» и продолжительным периодом цветения.

В факторе 5 (F5 – 7.5 % дисперсии) были отрицательно связаны тип куста (стоячий–компактный) и высота (длина) растения. Это значит, что у образцов с компактным кустом наблюдалась меньшая длина главного побега, чем у раскидистых или стелющихся растений.

На рис. 2 показано расположение образцов в пространстве первых двух факторов. Образцы из Турции находятся во всех зонах графика, поскольку характеризуются различными сочетаниями признаков. Образцы из Эфиопии располагаются в левой верхней и средней зонах (кроме одного образца), так как относятся к темносемянным, темноцветковым, с низким прикреплением первого боба на растении, с развалистой или стелющейся формой куста.

Таким образом, эфиопские образцы отличаются значительно меньшим разнообразием, мелкими темноокрашенными семенами угловатой формы. Растения невысокие, с низким прикреплением первого боба и низкой семенной продуктивностью. Турецкие образцы отличаются большим разнообразием по всем изученным нами морфологическим и хозяйственным признакам и обнаруживают все градации признаков, описанных в дескрипторах нута. Среди них встречаются самые продуктивные из изученных по сухой массе растения и по массе семян с растения (семенной продуктивности).

Обсуждение

Существуют разные определения местных сортов, у которых A.C. Zeven (1998) вслед за E. Mayr (1937) предложил различать два типа: автохтонные – зародившиеся в данной стране (коренные) и аллохтонные – принесенные из другой местности и адаптировавшиеся к данной. Таким сортам приписывают высокую толерантность к биотическим и абиотическим стрессорам, что выражается в их стабильности. Они способны обеспечивать среднюю урожайность при невысоком уровне агротехники (Mansholt, 1909, цит. по [Zeven, 1998]). Придание качеств адаптивности современным сортам нута актуально для многих районов его производства. Так же, как у многих современных сельскохозяйственных культур, у коммерческих сортов нута сужается генетическое разнообразие (Abbo et al., 2003; Upadhyaya et al., 2008). В то же время специалисты отмечают, что гермоплазма нута, хранящаяся в мировых генбанках, используется для улучшения культуры очень ограниченно (Upadhyaya et al., 2002). К примеру, из 6.7 млн геномных вариантов, наблюдаемых у видов – диких родичей нута, только 179000 отмечены в современных селекционных линиях (Eric et al., устное сообщение).

В изученной нами выборке местных сортов из первичного и вторичного центров происхождения можно с достаточной степенью определенности отметить тенденцию географической приуроченности некоторых признаков, что соответствует теории Н.И. Вавилова (1927) о географической закономерности в распределении генов растений. В частности, им выявлено, что восточным (прииндийским) областям присущи микроформы зернобобовых, в том числе нута, а в Средиземноморье распространены макроформы. Это касается и признаков семян, и вегетативных органов растений. Образцам из Эфиопии, изученным нами, присущи преимущественно мелкие семена дези-типа с темной окраской семенной оболочки и темноокрашенные цветки. При этом сравнительно узкие границы изменчивости признаков, отмеченные нами у этих образцов, вступают в противоречие с утверждением о широком разнообразии цветков, бобов, окраски семян и вегетативных органов; варьировании поверхности и формы семян у дези-типа (Moreno, Cubero, 1978), подтвержденном неоднократно. В частности, это показано для 1956 образцов нута, представляющих репрезентативную выборку из коллекции Международного исследовательского института сельскохозяйственных культур полуаридных тропиков (ICRISAT), так называемой core-коллекции. Анализ морфологических признаков этой выборки выявил меньшее значение среднего индекса фенотипического разнообразия у кабули-типа (0.1490) по сравнению с дези-типом (0.1656). Основной вклад в это различие, подсчитанное по методу M.A. Johns с коллегами (1997), определялся значительным ранжированием окраски цветков, семян и самих растений у дези-типа по сравнению с кабули, крапчатостью кожуры семени и полным ее отсутствием у кабули-типа, а также более разнообразной текстурой семенной оболочки (Upadhyaya et al., 2002). Интересно, что в нашем исследовании турецкие образцы дези-типа представлены образцами с большим разнообразием признаков, чем эфиопские.

Объяснение этому противоречию в следующем. Мы изучили образцы со сравнительно ограниченной территории. Между тем известно, географическое распространение дези-типа более широкое по сравнению с кабули: от восточного Средиземноморья до Центральной Азии и Индийского субконтинента. Распространение генофонда кабули-типа ограничено в основном западным Средиземноморьем, где растения дези-типа практически отсутствуют (Moreno, Cubero, 1978). На большой территории распространения дези-типа множество различных эколого-географических условий, экологических ниш и этносов. J. Harlan (1992) считал индийский субконтинент центром разнообразия нута, а L.J.G. van der Maesen (1984) – первичным центром разнообразия дези-типа.

Эфиопия – район древней культуры нута (Попова, 1937) – длительное время была довольно изолированной страной, далекой от торговых путей и имеющей мало международных контактов. Первобытный характер земледелия, господствовавший здесь даже в начале XX в., Н.И. Вавилов (1965) указывал в числе основных особенностей сельского хозяйства страны. По-видимому, этим и объясняется значительное однообразие образцов нута в Эфиопском центре происхождения. Такие характеристики, как мелко- и темносемянность, низкое прикрепление нижнего боба, низкая семенная продуктивность, развалистая/стелющаяся форма куста, свидетельствуют о низкой селекционной проработке нута в этих местах. Качественные признаки – угловатость семян, темная окраска семян и цветков – дикого типа, имеют доминантное наследование.

Н.И. Вавилов писал: «В Абиссинии мы встречаем такое богатство доминантных форм, как нигде в мире» (Вавилов, 1927. С. 766). Здесь он нашел темносемянные формы гороха, чечевицы, чины, фиолетовозерную пшеницу, темносемянный кориандр, зерновые с черными остями. В отношении нута он писал: «Среди нута (*Cicer arietinum*), конских бобов (*Vicia faba*), особенно среди первого, в Абиссинии часто встречаются черносемянные расы, почти не не известные или очень редкие у нас в Туркестане и на Кавказе» (Вавилов, 1927). Он называл Эфиопию центром доминантных генов, откуда на север идет изоляция рецессивов. Известно, что светлая окраска цветков и семян – рецессивное проявление признака.

О малом разнообразии местных сортов нута Эфиопии по сравнению с интродуцированным зарубежным селекционным материалом свидетельствуют и современные молекулярно-генетические данные. При изучении 155 образцов из эфиопской коллекции генетических ресурсов посредством SSR-маркеров у интродуцированных генотипов был выявлен полиморфизм на уровне 70.27 % по сравнению с местными сортами разного географического происхождения, в сумме показавшими 36–57 % разнообразия (Keneni et al., 2012).

Несмотря на признание большинством ученых Передней Азии центром происхождения нута и предполагаемую относительную молодость эфиопского нута (Redden, Berger, 2007), по комплексу признаков нут Эфиопии, Индии и Памира следует считать наиболее древним (Попова, 1937). Характер изменчивости признаков и области распространения двух типов нута дают основание признать дези-тип более примитивным (Gowda et al., 1987; Singh, 1997; Pearman, 2005; и др.). Возможно, компромиссным решением этого вопроса можно считать более дифференцированную систему центров разнообразия нута, предложенную L.J.G. van der Maesen (1984), в которой индийский субконтинент считается первичным центром разнообразия дези-типа, а Эфиопия – его вторичным центром.

Среди изученных турецких образцов соотношение дези- и кабули-типов было 43 : 57. Преобладали образцы с белыми семенами. Остальные имели розовую, рыжую, светло-коричневую и коричневую семенную кожуру. Вегетационный период турецких образцов при посеве в Сирии был в среднем на семь дней дольше, чем у эфиопских (см. табл. 3). При этом, однако, границы этого признака у турецких местных сортов гораздо шире, чем у эфиопских.

Во время своей экспедиции по Турции в 1927 г. П.М. Жуковский наблюдал, что нут в этой стране возделывался повсеместно и являлся общенациональным повседневным продуктом. Здесь наблюдалось исключительное сортовое разнообразие нута, характерное и для ряда других зернобобовых: вики, отчасти чечевицы и коровьего гороха. Он отметил две особенности культурных растений Турции того времени: 1) их формообразование происходило на стыке двух географических экологически различных областей – юго-западно-азиатской и средиземноморской; 2) они носили след древней селекции, искусственного отбора, т. е. местное население сыграло заметную роль в облагораживании культурных растений, таких как нут, горох, бобы, чечевица, коровий горох и ряд зерновых (Жуковский, 1933).

Рассмотрим наши данные в соответствии с эколого-географической классификацией вида *C. arietinum*, созданной в ВИР (Попова, 1937).

В пределах вида *C. arietinum* различают 46 разновидностей, более половины которых (29) обнаружены в Турции (Попова, Павлова, 1933). Разновидности, определяемые главным образом по признакам семян, цветков и бобов, объединяются в эколого-географические группы разновидностей, которые в экологическом значении соответствуют экотипам и имеют географическое название, связанное с ареалом.

Все образцы, имеющиеся в коллекции ВИР с территории Эфиопии, классифицированы как разновидности одной – абиссинской (*abissynicum*) – эколого-географической группы, совершенно своеобразной и эндемичной для Эфиопии. Этой группе наряду с описанными выше признаками присущи полусомкнутые кусты, мелкие бобы, требовательность к теплу как на ранних фазах развития, так и при созревании. Для растений характерна нейтральная реакция на фотопериод. В целом отмечена слабая дифференциация группы (Попова, 1937).

Автохтонность этой группы не вызывает сомнения. Единственный образец кабули-типа, встретившийся в выборке старых местных сортов из Эфиопии, мы склонны считать заносным, аллохтонным.

Образцы, собранные П. Жуковским на территории Турции, классифицированы следующим образом: кроме группы собственно турецких разновидностей (*turcicum*

G. Pop.), отмечены формы, относимые к испанской (*hispanicum* G. Pop.) и афганской (*afghanicum* G. Pop.) группам разновидностей (Попова, 1937). Турецкая группа отличается средними значениями размеров вегетативных органов, крупными семенами, высокой продуктивностью растений, устойчивостью к холоду на первых фазах и требовательностью к теплу при созревании.

Афганские разновидности, пришедшие в Турцию с востока, сравнительно позднеспелые, с более мелкими светлыми, реже темными и угловатыми семенами. Продуктивность растений – средняя. Эту группу отличает устойчивость к засухе. Для обеих групп характерна сомкнутость куста. Представители испанской группы разновидностей, собранные в западной части Турции, обладают крупными и светлыми округлыми семенами, большими размерами вегетативных органов и бобов, светлыми цветками. Растения этой группы среднеспелые, среднеустойчивые к засухе, требовательные к теплу. Как сказано выше, у изученных нами турецких образцов отмечен практически весь спектр признаков, указанных в дескрипторах нута. Следовательно, Турция к началу XX столетия была средоточием форм нута, присущих как восточному, так и западному Средиземноморью, а также районам, близким к Центральной и Средней Азии – Ирану и Афганистану. Мы полагаем, что это дает основание считать местные сорта нута в Турции преимущественно аллохтонными формами.

Эти особенности наглядно отражаются в изученной нами выборке турецких местных сортов. В связи с их формообразованием в различных экологических условиях, привнесением в страну западносредиземноморских и афганских форм, наличием примитивной селекции в различных регионах, между которыми было ограниченное сообщение, и возникло большое разнообразие турецкого генофонда местных сортов нута. Эфиопские местные сорта, будучи представителями автохтонной культурной флоры и эндемиками, произрастали на Эфиопском нагорье в сравнительно однородных почвенно-климатических условиях, практически не подвергались влиянию человека, поэтому вариабельность их признаков была значительно ниже.

Сравнительно высокая изменчивость признаков у турецких местных сортов нута отмечена и в современных исследованиях посредством AFLP-маркирования (Talebi et al., 2008).

Таким образом, богатое фенотипическое разнообразие старых местных сортов из центров происхождения нута свидетельствует о том, что и на современном этапе селекции культуры они могут быть ценными источниками признаков скороспелости (эфиопские образцы), высокой продуктивности, крупности семян, устойчивости к засухе (турецкие образцы разных эколого-географических групп).

Acknowledgments

This study was supported by the Russian Science Foundation, project 16-16-00007.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Abbo S., Berger J., Turner N.C. Evolution of cultivated chickpea: four bottlenecks limit diversity and constrain adaptation. Funct. Plant Biol. 2003;30:1081-1087.

Afshin A., Micha R., Khatibzadeh S., Mozaffarian D. Consumption of nuts and legumes and risk of incident ischemic heart disease, stroke, and diabetes: a systematic review and meta-analysis. Am. J. Clin. Nutr. 2014;100:278-288.

CGIAR. Chickpea. Available at: http://www.cgiar.org/our-strategy/crop-factsheets/chickpea.

Descriptors for chickpea (*Cicer arietinum* L.) IBPGR, ICRISAT, ICARDA. Rome, 1993.

Gowda C.L.L., Rao B.V., Chopra S. Utility of desi × kabuli crosses in chickpea improvement. Int. Chickpea Newsl. 1987;17:4-6.

Harlan J.R. Crops and Man. Am. Soc. Agron. Crop Sci. Soc. Am., Madison. 1992.

Ivanter E.V., Korosov A.V. Vvedenie v kolichestvennuyu biologiyu [Introduction to quantitative biology]. Petrozavodsk State University. Petrosavodsk, 2003. (in Russian)

Johns M.A., Skroch P.W., Nienhuis J., Hinrichsen P., Bascur G., Munoz-Schick C. Gene pool classification of common bean landraces from Chile based on RAPD and morphological data. Crop Sci. 1997;37:605-613.

Keneni G., Bekele E., Imtiaz M., Dagne K., Getu E., Assefa F. Genetic diversity and population structure of Ethiopian chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasm accessions from different geographical origins as revealed by microsatellite markers. Plant Mol. Biol. Rep. 2012;30:654-665.

Maesen L.J.G. van der. Taxonomy, distribution and evolution of chickpea. Eds. J.R. Witcombe, W. Erskine. Genetic Resources and Their Exploitation-Chickpeas, Faba Beans and Lentils. Martinus Nijhoff/Junk, The Hague, The Netherlands, 1984;95-104.

Mansholt U.J. Van Pesch Plantenteelt, beknopte handleiding tot de kennis van den Neederlandschen landbouw. 1909. Pt. 2. Plantenteelt. Zwolle.

Mayr E. Alpine Landsorten in ihrer Bedeutung für die Praktische Züchtung. Forschungsdienst, 1937;4:162-166.

Moreno M.T., Cubero J.I. Variation in *Cicer arietinum* L. Euphytica. 1978;27:465-485.

Pearman G. Nuts, Seeds and Pulses. The Cultural History of Plants. Eds. C. Prance, M. Nesbitt. New York: Routledge, 2005;133-153.

Popova G.M. Nut [Chickpeas]. E.V. Wulf (Ed.) Kulturnaya Flora SSSR [Cultivated flora of the USSR]. T.IV. Zernovye bobovye [V. 4. Grain legumes]. Moscow; Leningrad, 1937;23-71. (in Russian)

Popova G.M., Pavlova A.M. Nut v Turtsii [Chickpeas in Turkey]. Zhukovskiy P.M. Zemledel'cheskaya Turtsiya. (Aziatskaya chast' – Anatoliya) [Agricultural Turkey: the Asian part (Anatolia)]. Ed. by N.I. Vavilov. Moscow; Leningrad, Sel'khozgiz Publ., 1933;310-347. (in Russian)

Pundir R.P.S., Reddy K.N., Mengesha V.Y. ICRISAT Chickpea Germplasm Catalog: Evaluation and Analysis. ICRISAT, Patancheru, India, 1988.

Redden R.J., Berger J.D. History and Origin of Chickpea. Eds. S.S. Yadav, R. Redden, W. Chen, B. Sharma. Chickpea Breeding and Management. CABI, Wallingford, UK, 2007;1-13.

Singh K. B. Chickpea (*Cicer arietinum* L.). Field Crop Res. 1997;53:161-170.

Sokal R.R., Rohlf F.J. Biometry: the Principles and Practice of Statistics in Biological Research. New York: Freeman, 1995.

StatSoft Inc, 2013. Electronic Statistics Textbook. Tulsa, OK: StatSoft. WEB: http:// www.statsoft.com/textbook/.

Talebi R., Naji A.M., Fayas F. Geographical patterns of genetic diversity in cultivated chickpea (*Cicer arietinum* L.) characterized by amplified fragment length polymorphism. Plant Soil Environ. 2008;54:447-452.

Upadhyaya H.D., Dwivedi S.L., Baum M., Varshney R.K., Udupa S.M., Gowda C.L., Hoisington D., Singh S. Genetic structure,

diversity, and allelic richness in composite collection and reference set in chickpea (*Cicer arietinum* L.). BMC Plant Biol. 2008. DOI 10.1186/1471-2229-8-106.

Upadhyaya H., Ortiz R., Bramel P., Singh S. Phenotypic diversity for morphological and agronomic characteristics in chickpea core collection. Euphytica. 2002;123:333-342.

van Zeist W., Bottema S. Vegetation history of the eastern Mediterranean and the near east during the last 20.000 years. Eds. J.L. Bintliff, W. van Zeist. Paleoclimates, Palaenvironments and Human Communities in the Eastern Mediterranean Region in Later Prehistory. British Archeological Reports. Int. Ser. 133. 1972.

Vavilov N.I. Centers of origin of cultivated plants. Trudy po prikl. bot. i sel. = Bulletin of Applied Botany and Plant Breeding. 1926;16:1-248. (in Russian)

Vavilov N.I. Geographical regularities in the distribution of genes in cultivated plants. Priroda = Nature (Moscow). 1927;10:764-773. (in Russian)

Vavilov N.I. The origin, variation immunity and breeding of cultivated plants. Chronica Botanica. 1951;13:1-366.

Vavilov N.I. Sovetskaya ekspeditsiya v Abissiniyu [Soviet expedition to Abyssinia]. Akademik N.I. Vavilov. Izbrannye trudy [Academician N.I. Vavilov: selected works]. 1965;V:740-751. (in Russian)

Veteläinen M., Negri V., Maxted N. European landraces on farm conservation, management and use. Bioversity Technical Bulletin. 2009;15. Bioversity International, Rome, Italy.

Vishnyakova M.A. VIR collection as a basis for expanding the horizons of breeding of grain legumes crops. Zernobobovye i krupyanye kul'tury = Legumes and Groat Crops. 2016;2:5-12. (in Russian)

Vishnyakova M.A., Buravtseva T.V., Bulyntsev S.V., Burlyaeva M.O., Semenova E.V., Seferova I.V., Egorova G.P., Gerasimova T.V., Drugova E.V. Kollektsiya mirovykh geneticheskikh resursov zernovykh bobovykh VIR: popolnenie, sokhranenie i izuchenie. Metodicheskie ukazaniya [VIR collection of world genetic resources of grain legumes: development, preservation, and study. Methodical Guidelines]. St.-Petersburg, VIR, 2010. (in Russian)

Zeven A.C. Landraces: a review of definitions and classifications. Euphytica.1998;104:127-139.

Zhukovskiy P.M. Zemledel'cheskaya Turtsiya. (Aziatskaya chast' – Anatoliya) [Agricultural Turkey: the Asian part (Anatolia)]. Ed. by N.I. Vavilov. Moscow; Leningrad, Sel'khozgiz Publ., 1933. (in Russian)

Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):180-188
DOI 10.18699/VJ17.235

Комплексная оценка сортового фонда айвы (*Cydonia oblonga* Mill.) в условиях Краснодарского края

Т.Г. Причко ✉, Л.Д. Чалая, Н.В. Можар

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства», Краснодар, Россия

Введение в промышленное садоводство сортов айвы, отличающихся зимостойкостью, высокой продуктивностью, хорошими товарными качествами и ценным химическим составом, – одно из приоритетных селекционных направлений. В статье представлен подбор родительских пар сортов айвы с учетом биологических и хозяйственно ценных признаков: Исполинская – по степени крупноплодности; Каунчи 8 – по качеству плодов; Золотистая, Мускатная – по урожайности, высокой зимостойкости и засухоустойчивости; Кубанская – по сдержанности роста дерева. Выделены сорта с горизонтальной устойчивостью к монилиозу: Мускатная, Новогодняя, Урожайная кубанская, Софья. Установлены сроки цветения айвы: раннее начало цветения характерно сортам Дюна и Нивушка, позднее – Аврора, Новогодняя, Румо. Выявлены высокоурожайные сорта Аврора, Золото скифов, Подарочная, Урожайная кубанская, Софья, обладающие максимальной экологической адаптацией к неблагоприятным факторам среды. На основе гибридологического анализа установлены наследуемые признаки, характеризующие их товарные качества: «яблоковидная форма» и «величина плода»; выделены сорта с наиболее стабильными техническими показателями (коэффициент вариации составляет 8.5–10 %) – Новогодняя, Нивушка, Подарочная. Установлены сортовые различия по содержанию сахаров, витаминов и полифенолов сортов – новых и взятых для скрещивания. Новые сорта Золотистая (28.4 мг/100 г), Новогодняя (33.3 мг/100 г), Подарочная (32.3 мг/100 г) отличаются повышенным содержанием витамина С; Кубаночка (225.0 мг/100 г), Новогодняя (222.2 мг/100 г), Подарочная (196.8 мг/100 г) – высоким содержанием Р-активных катехинов. Выделенные сорта селекции СКЗНИИСиВ пополнят сортимент юга России ценными конкурентоспособными генотипами айвы (*Cydonia oblonga* Mill.).

Ключевые слова: айва; селекция; донор; наследование; адаптация; цветение; продуктивность; товарные качества; химический состав.

Comprehensive assessment of the varietal fund of quince (*Cydonia oblonga* Mill.) in the conditions of Krasnodar region

T.G. Prichko ✉, L.D. Chalaya, N.V. Mozhar

North-Caucasus Zonal Scientific-Research Institute of Horticulture and Viticulture, Krasnodar, Russia

Introduction to industrial horticulture varieties of quince, characterized by winter hardiness, high productivity and good product qualities and valuable chemical composition, is one of the priorities in breeding. The article presents a selection of parental pairs, taking into account their biologically and economically valuable traits: Ispolinskaya (yield of large fruits); Caunchi 8 (fruit quality); Zolotistaya and Muskatnaya (yield, high winter hardiness and drought resistance); and Kubanskaya (tree growth restraint). Varieties with horizontal resistance to monilia are Muskatnaya, Novogodnyaya, Urozaijnaya kubanskaya and Sophia. The timing of flowering was determined for early-flowering Dyuna and Nivushka and late-flowering Aurora, Novogodnyaya and Rumo. Aurora, Zoloto skifov, Podarochnaya, Urozaijnaya kubanskaya and Sophia were identified as high-yield varieties, with maximum environmental adaptation to adverse environmental factors. Based on hybridological analysis, the inherited traits that characterize their commercial quality (apple-shaped fruits and fruit size) have been identified; the varieties with the most stable technical performance (the coefficient of variation V = 8.5–10.0 %) are Novogodnyaya, Nivushka and Podarochnaya. Varietal differences in the content of vitamins and polyphenols have been identified between new varieties and cultivars taken for crossing: Zolotistaya (28.4 mg/100 g), Novogodnyaya (33.3 mg/100 g) and Podarochnaya (32.3 mg/100 g) are high in vitamin C; Kubanochka (225.0 mg/100 g), Novogodnyaya (222.2 mg/100 g) and Podarochnaya (196.8 mg/100 g) are high in P-active catechins, which allows you to replenish your assortment of quince for the South of Russia with valuable genotypes of quince (*Cydonia oblonga* Mill.) competitive varieties of selection by the North-Caucasus Zonal Scientific-Research Institute of Horticulture and Viticulture.

Key words: quince; selection; donor; inheritance; adaptation; flowering; productivity; product quality; chemical composition.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:
Причко Т.Г., Чалая Л.Д., Можар Н.В. Комплексная оценка сортового фонда айвы (*Cydonia oblonga* Mill.) в условиях Краснодарского края. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):180-188. DOI 10.18699/VJ17.235

HOW TO CITE THIS ARTICLE:
Prichko T.G., Chalaya L.D., Mozhar N.V. Comprehensive assessment of the varietal fund of quince (*Cydonia oblonga* Mill.) in the conditions of Krasnodar region. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(2):180-188. DOI 10.18699/VJ17.235

Received 16.06.2016
Accepted for publication 24.10.2016
© AUTHORS, 2017

✉ e-mail: kubansad@kubannet.ru

Айва – важная культура южной зоны садоводства, плоды которой ценятся за высокие вкусовые, лечебно-профилактические, диетические качества и являются источником биологически активных веществ полифункционального действия, которые стимулируют физиологические процессы, обеспечивающие нормальную жизнедеятельность человека, и повышают адаптационный потенциал растения к неблагоприятным факторам среды, активизируя иммунную систему. В настоящее время айву выращивают более чем в 40 странах мира в зонах умеренного и субтропического климата, в том числе в Америке – США и Мексике, в Европе – Австрии и Германии, в Турции, республиках Средней Азии и др. (Салаш, Рженичек, 2000; Витковский, 2003; Lyle, 2006; Adler, 2011). По данным FAOSTAT (Статистическая база данных FAO – организации ООН по вопросам продовольствия и сельского хозяйства), в 2009 г. под айвовыми насаждениями находилось: в Турции – 9 800, Узбекистане – 7 000, Аргентине – 3 200, Азербайджане – 3 100, Сербии – 2 200, России – 1 000 га.

Недостатки большинства западноевропейских сортов – низкая морозостойкость генеративных почек, изменяющая проницаемость клеточных мембран (Bartish et al., 1999), а также слабая урожайность (Adler, 2001; Клименко, 2005). Другим недостатком айвы считается ее склонность к поражению монилиозом, вызываемым грибом *Monilia cydoni*. Практически ежегодно повторяющиеся в Краснодарском крае эпифитотии монилиоза приводят к ослаблению деревьев, низкой закладке генеративных органов, снижению зимостойкости и засухоустойчивости и, как результат, к потере урожая (Можар, 2008).

Для широкого внедрения айвы в производственные посадки необходимы соответствующие сорта, обладающие высокой экологической устойчивостью к стрессовым факторам окружающей среды и отвечающие требованиям современного интенсивного садоводства (Седов, 1989; Красова, Глазова, 2005; Можар, 2012). Поэтому приоритетным селекционным направлением, отвечающим задачам биологизации и экологизации культуры, является создание иммунных к грибным патогенам сортов, отличающихся зимостойкостью, высокими товарными качествами и ценным химическим составом плодов. Успешное решение этой проблемы неразрывно связано с углублением генетических исследований, совершенствованием методов селекции, привлечением и созданием качественно нового, генетически разнообразного гибридного материала от межсортовой гибридизации различных эколого-географических групп айвы и определением характера наследования селекционно-ценных и адаптивно значимых признаков.

Для создания конкурентоспособных сортов айвы в СКЗНИИСиВ ведется селекционная работа по ряду приоритетных направлений: селекции на зимостойкость, устойчивость к болезням; качеству плодов.

Цель работы – дать комплексную оценку сортового фонда айвы (*Cydonia oblonga* Mill.), выращенной в селекционных насаждениях СКЗНИИСиВ, по биологическим и хозяйственно ценным признакам и выделить сорта с высокой экологической пластичностью, продуктивностью, устойчивостью к неблагоприятным погодным условиям, с высоким качеством плодов.

Актуальность исследований обоснована наличием в селекционных посадках генофонда более 50 культурных форм айвы – ценного исходного материала для селекции по самым разнообразным признакам.

Материалы и методы

Исследовано 22 сортоформы айвы (*C. oblonga* Mill.), полученные методом гибридизации от межсортовых скрещиваний сортов, взятых из различных эколого-географических групп, а также сортов от свободного опыления и выращенных в Прикубанской плодовой подзоне на базе ОПХ «Центральное» СКЗНИИСиВ (г. Краснодар). Год посадки – 2007, схема посадки: 5 × 4, без орошения.

В работе использованы селекционные программы и методики оценки генотипов айвы по устойчивости к заморозкам, монилиозу, регулярности цветения и плодоношения по программам и методикам сортоизучения и селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур (Программа и методика селекции…, 1995; Программа и методика сортоизучения…, 1999).

Изучение химического состава плодов проводили с использованием титро-, фото-, спектрофотометрических методов анализа по следующим методикам: содержание растворимых сухих веществ (РСВ) – на рефрактометре RL-3 (Польша) (ГОСТ 28562); кислот – титрованием подготовленной пробы 0.1 моль/дм^3 раствором щелочи (NaOH) в присутствии фенолфталеина (ГОСТ…, 2014); сахаров – титрованием Фелинговой жидкостью; витамина С – титрованием подготовленной пробы йодистым калием согласно «Методическим указаниям по определению химических веществ для оценки качества урожая овощных и плодовых культур» (Ермаков, Воскресенская, 1979); Р-активных катехинов – колориметрированием в присутствии ванилинового реактива на приборе КФК-3-01-«ЗОМЗ» (Россия); состава органических кислот – методом капиллярного электрофореза на приборе «Капель» 104 Р (Современные инструментально-аналитические методы..., 2015).

Статистическую обработку проводили в пакете программ Statistica (StatSoft, США). Надежность полученных результатов проверяли по критерию Стьюдента.

Результаты

Выбор сортов, предназначенных для скрещивания, основан на экспериментальных данных биологических особенностей доноров. Предпочтение отдается сортам с поздним сроком цветения, который является важным хозяйственным признаком, имеющим временной запас к возвратным весенним заморозкам, позволяющим избежать повреждения генеративных органов растения.

Наблюдения за прохождением фенофаз позволили выделить позднодцветущие родительские формы: Золотистая, Каунчи 8, Краснодарская крупная, Янтарная и полученные с их использованием новые сорта – Аврора (Исполинская × Каунчи 8), Золото скифов (Каунчи 8, свободное опыление), Румо (Ахмед Жум × Краснодарская крупная) и др. (табл. 1).

При оценке комбинационной способности родительских форм по признаку «продуктивность» установлено, что наибольшая урожайность новых сортов получена с

Table 1. Timing, degree of flowering, and average yield in quince (*C. oblonga* Mill) varieties, 2010-2015

Variety	Flowering		Mean yield, kg/tree*
	flowering start	Score	
Parental forms			
Azerbaijanskaya	28.04 – 09.05	4.0	30.0
Ahmed Zhum	30.04 – 08.05	4.5	35.0
Zolotistaya	04.05 – 10.05	5.0	43.3
Ispolinskaya	02.05 – 08.05	4.0	25.0
Kaunchi 8 (control)	03.05 – 09.05	4.0	22.0
Kubanskaya	30.04 – 09.05	5.0	38.5
Krasnodarskaya krupnaya	02.05 – 9.05	5.0	35.0
Muskatnaya	02.05 – 09.05	5.0	48.1
Yantarnaya	03.05 – 10.05	5.0	41.3
Elita No. 17	03.05 – 08.05	4.5	23.3
New cultivars			
Avrora (Ispolinskaya × Kaunchi 8)	04.05 – 11.05	4.5	52.0
Dyuna (Zolotistaya × Kubanskaya)	29.04 – 08.05	5.0	44.8
Zoloto skifov (Kaunchi 8, o.p.**)	03.05 – 10.05	5.0	48.6
Zolotoy shar (Kubanskaya, o.p.**)	30.04 –11.05	5.0	45.0
Kubanochka (Kubanskaya, o.p.**)	30.04 – 08.05	5.0	45.6
Naslednitsa (Yantarnaya, o.p.**)	28.04 – 03.05	5.0	53.3
Nivushka (Muskatnaya, o.p.**)	29.04 – 09.05	4.5	51.0
Novogodnyaya (Azerbaijanskaya × Muskatnaya)	04.05 – 11.05	4.0	35.0
Podarochnaya (o.p. of Hybrid No. 17)	30.04 – 09.05	5.0	55.3
Rumo (Ahmed Zhum × Krasnodarskaya krupnaya)	04.05 – 11.05	4.0	38.7
Sofya (Ispolinskaya × Kaunchi 8)	02.05 – 10.05	5.0	53.0
Urozhaynaya kubanskaya (Ispolinskaya × Kaunchi 8)	04.05 – 10.05	5.0	62.7
$LSD_{0.5}$	–	–	1.51

* kg/tree, kilograms per tree; ** open pollination; $LSD_{0.5}$, the least significant difference.

использованием комбинации Исполинская × Каунчи 8. В данном варианте скрещивания созданы сорта Урожайная кубанская (62.7 кг/дер.), Софья (53.0 кг/дер.), Аврора (52.0 кг/дер.), значительно превосходящие родительские формы.

Сравнительно низкая продуктивность отмечена при использовании комбинации Азербайджанская × Мускатная (сорт Новогодняя) и Ахмед Жум × Краснодарская крупная (сорт Румо), у которых урожайность была на уровне родительских форм.

В селекции на создание высокоурожайных сортов заслуживает внимания вариант со свободным опылением сортов Мускатная, Янтарная и элитной формы № 17, позволяющих получить высокопродуктивные сорта Нивушка (средняя урожайность 50.0 кг/дер.), Наследница (53.3 кг/дер.), Подарочная (55.3 кг/дер.).

Продуктивность сортов определяется товарными качествами плодов (размеры, масса, внешний вид). Ценный селекционный признак айвы – крупноплодность, которая может варьировать под влиянием многих факторов, в том числе погодных условий вегетационного периода, агротехнических приемов и др. (Клименко, 2009; Можар, 2012).

Эффективность селекционной работы по признаку «масса плода» зависит от генетического потенциала сортов, взятых в качестве родительских форм.

Признак «масса плода» у айвы – полигенный, контролируется многими генами, находящимися в разных участках хромосомы. Полученное потомство отличалось от родительских форм как крупноплодностью (сорт Кубаночка), так и более низкой массой плодов (сорт Нивушка). Многие новые сорта (Румо, Урожайная кубанская, Софья и др.) имели идентичную родителям массу плода.

Большим потребительским спросом пользуются крупноплодные сорта Румо, Урожайная кубанская, Софья. Необходимо отметить, что сравнительно небольшой размер плодов сорта Нивушка во многом определяется максимальной ежегодной урожайностью.

В результате изучения признака «масса плода» согласно «Программе и методике сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур (1995) проведена группировка сортов по размеру и установлено, что все иссле-

Table 2. Commercial indices of quince fruit (*C. oblonga* Mill.), 2010–2015

Variety	Product quality			
	Weight	Fruit length, mm	Diameter, mm	Shape index, a.u.*
Parental forms				
Azerbaijanskaya	259.0 ± 14.0	82.2 ± 6.6	77.0 ± 4.4	1.06
Ahmed Zhum	234.5 ± 8.8	78.9 ± 6.0	74.9 ± 4.4	1.05
Zolotistaya	269.0 ± 12.6	73.5 ± 5.2	84.7 ± 4.9	0.87
Ispolinskaya	294.0 ± 13.6	72.4 ± 5.5	81.8 ± 5.6	0.89
Kaunchi 8 (control)	285.0 ± 18.5	88.0 ± 7.0	81.5 ± 5.2	1.08
Kubanskaya	190.0 ± 14.0	63.0 ± 5.4	71.6 ± 4.2	0.88
Krasnodarskaya krupnaya	410.0 ± 16.0	113.6 ± 8.8	106.8 ± 8.2	1.07
Muskatnaya	210.0 ± 16.5	66.0 ± 4.2	77.0 ± 3.9	0.86
Yantarnaya	201.0 ± 18.0	72.2 ± 5.0	80.6 ± 4.0	0.90
Elita No. 17	285.0 ± 18.4	80.0 ± 5.6	82.2 ± 6.8	0.97
Mean	261.3 ± 15.0	78.9 ± 5.9	81.8 ± 5.2	0.96
New cultivars				
Avrora	295.0 ± 10.2	77.8 ± 5.2	78.5 ± 4.9	0.99
Dyuna	288.0 ± 16.0	81.2 ± 6.0	82.2 ± 4.6	0.99
Zoloto skifov	286.0 ± 12.0	72.0 ± 5.4	78.8 ± 5.0	0.92
Zolotoy shar	204.0 ± 11.5	67.4 ± 5.0	74.1 ± 4.2	0.93
Kubanochka	216.0 ± 12.2	72.2 ± 5.0	74.0 ± 4.2	0.98
Naslednitsa	274.0 ± 10.0	78.0 ± 7.0	82.5 ± 4.9	0.95
Nivushka	190.0 ± 9.0	63.5 ± 4.4	73.5 ± 3.6	1.15
Novogodnyaya	290.0 ± 8.5	95.4 ± 7.2	77.6 ± 4.0	1.23
Podarochnaya	280.0 ± 10.0	90.2 ± 6.0	86.6 ± 4.4	1.04
Rumo	380.0 ± 13.5	116.7 ± 7.4	96.3 ± 5.8	1.2
Sofya	308.0 ± 15.6	80.2 ± 6.2	70.8 ± 6.0	1.13
Urozhaynaya kubanskaya	325.0 ± 14.0	86.6 ± 5.4	83.7 ± 5.5	1.1
Mean	278.0 ± 11.9	81.8 ± 5.9	80.0 ± 5.1	1.02

* a.u., arbitrary units.

Table 3. Fruit size distribution in hybrid progeny of quince (*C. oblonga* Mill.)

Crosses	Parental forms	Number of seedlings	Large %	Medium %	Small %
Ahmed Zhum × Krasnodarskaya	large × large	365	26.3	55.7	18.0
Ispolinskaya × Kaunchi 8	large × medium	189	30.5	43.7	25.8
Zolotistaya × Kubanskaya	medium × medium	390	15.8	38.1	46.1
Azerbaijanskaya × Muskatnaya	medium × medium	125	8.6	32.4	59.0

дованные сорта делятся в основном на две группы: выше среднего размера и крупноплодные (табл. 2).

Высокие значения коэффициента наследуемости с усилением признака «размер плода» отмечены у сорта Исполинская, использование которого в селекции позволило получить в потомстве 30.5 % сеянцев с крупными плодами (табл. 3).

Выявлена селекционная перспектива семьи Исполинская × Каунчи 8, позволившая получить сорта Аврора, Урожайная кубанская, Софья, масса отдельных плодов которых варьирует от 400.0 (Софья) до 800.0 г (Аврора) (рисунок).

Таким образом, исследованные сорта с диаметром плода более 70.0 мм относятся к одному товарному сорту и полностью соответствуют существующему ГОСТу РФ (ГОСТ…, 2011) при условии отсутствия вредителей, болезней (*Monilia fructigena* Pers.), растрескивания и градобоин.

Urozhaynaya kubanskaya | Avrora | Sofya

New quince (*C. oblonga* Mill.) cultivars derived from parental varieties Ispolinskaya and Kaunchi 8.

Table 4. Basic biochemical characteristics of quince (*C. oblonga* Mill.) fruit, Krasnodar, 2010–2015

Variety	Content, %			Sugar : acid index, a.u.
	SS	sugars	acids	
Parental varieties				
Azerbaijanskaya	13.3 ± 0.9	7.3 ± 0.90	0.73 ± 0.05	10.0
Ahmed Zhum	14.0 ± 1.1	7.9 ± 1.2	0.80 ± 0.05	9.8
Zolotistaya	13.2 ± 0.8	7.3 ± 0.8	0.64 ± 0.8	11.4
Ispolinskaya	15.0 ± 1.2	9.8 ± 1.46	0.94 ± 0.1	10.4
Kaunchi 8 (control)	14.8 ± 1.2	9.4 ± 0.84	0.52 ± 0.08	18.1
Kubanskaya	13.5 ± 1.4	8.1 ± 0.75	1.05 ± 0.15	7.7
Krasnodarskaya krupnaya	16.8 ± 1.5	11.0 ± 1.0	0.72 ± 0.12	15.2
Muskatnaya	15.2 ± 0.8	9.7 ± 0.54	1.05 ± 0.1	9.2
Yantarnaya	14.6 ± 2.0	9.1 ± 2.0	0.85 ± 0.18	10.7
Elita No. 17	14.6 ± 2.0	9.1 ± 2.0	0.75 ± 0.18	10.7
Mean	14.5 ± 1.2	8.8 ± 1.05	0.82 ± 0.18	11.3
New cultivars				
Avrora	14.8 ± 1.0	9.6 ± 0.98	0.9 ± 0.08	10.7
Dyuna	14.9 ± 1.2	9.4 ± 0.88	0.62 ± 0.1	15.2
Zoloto skifov	16.0 ± 1.6	10.9 ± 1.25	1.02 ± 0.16	10.0
Zolotoy shar	13.8 ± 0.9	8.6 ± 0.88	0.83 ± 0.12	10.4
Kubanochka	14.0 ± 0.6	8.2 ± 0.45	0.98 ± 0.12	8.9
Naslednitsa	14.8 ± 0.6	9.5 ± 0.8	0.92 ± 0.09	10.3
Nivushka	15.0 ± 1.1	9.4 ± 0.7	1.22 ± 0.12	7.6
Novogodnyaya	14.6 ± 0.9	9.3 ± 0.82	1.0 ± 0.07	9.3
Podarochnaya	16.9 ± 1.6	11.3 ± 1.46	1.22 ± 0.12	8.6
Rumo	14.5 ± 1.2	9.4 ± 0.9	1.0 ± 0.13	9.4
Sofya	15.1 ± 0.6	9.8 ± 0.66	1.0 ± 0.08	9.3
Urozhaynaya kubanskaya	14.3 ± 0.4	9.6 ± 0.5	1.0 ± 0.12	8.7
Mean	14.9	9.6	0.94 ± 0.11	9.9

По форме плода сорта айвы селекции СКЗНИИСиВ делятся на яблоковидные (Золотистая, Аврора, Золотой шар и др.) и грушевидные (Софья, Урожайная кубанская). Отмечены и переходные формы между этими группами (Подарочная, Румо).

Перспективность сортов для промышленного использования определяется и комплексом показателей, характеризующих физиологическую ценность (сахара, кислоты, витамины) (Причко и др., 2012). К моменту сбора плодов в родительских формах айвы содержится в среднем 14.5 % растворимых сухих веществ и 8.8 % общих сахаров. По содержанию сухих веществ (более 16.0 %) и общих сахаров (более 10.9 %) в этой группе выделяется сорт Краснодарская крупная (табл. 4).

В полученном потомстве в среднем содержание РСВ составляет 14.9 %, сахаров – 9.6 %, что говорит о положительных результатах селекции, направленной на улучшение химических показателей, характеризующих пищевые качества плодов. Выделены сорта: Подарочная, Золото скифов, Софья.

На примере сорта Аврора установлено, что в плодах айвы преобладают моносахара. Общее содержание сахаров составляет 9.6 %, содержание фруктозы + глюкозы – 8.4 % (из них фруктозы – 4.9, глюкозы – 3.5 %), что подтверждается исследованиями ряда российских и зарубежных авторов о доминировании редуцирующих сахаров в плодах семечковых культур (Silva et al., 2006; Клименко, 2005, 2009; Причко и др., 2015).

Айва, выращенная в условиях Краснодарского края, отличается повышенным содержанием кислот, варьирующих от 0.52 (интродуцированный сорт Каунчи 8) до 1.22 % (новые сорта селекции СКЗНИИСиВ Нивушка и Подарочная). Данные показатели в два-три раза выше, чем у наиболее распространенных сортов Украины, у которых только в отдельные годы количество кислот превышает 0.75, а в среднем составляет 0.55 % (Клименко, 2005). В плодах родительских форм и новых сортов селекции СКЗНИИСиВ содержатся в основном яблочная кислота (до 90.0 % от общего содержания), а также лимонная, янтарная и молочная кислоты.

Высокое содержание кислот передается потомству, полученному при свободном опылении сортов, взятых в качестве родительских форм. Так, на основе сорта айвы Мускатная, содержащей более 1.0 % органических кислот, получен сорт Нивушка с содержанием титруемых кислот более 1.2 %.

Гармоничное сочетание кислоты и сахара определяет вкусовые качества плодов – от кислого, с сахарокислотным индексом (СКИ) не более 9.0 относительных единиц (о. е.), до сладкого, СКИ более 15.0 о. е. Кислый вкус характерен для плодов новых сортов айвы: Урожайная кубанская, Кубаночка, Подарочная, Нивушка. В группе сортов, представляющих родительские формы, кислый вкус отмечен в плодах сорта Кубанская (СКИ 7.7 о. е.). Полученный при его участии сорт Кубаночка унаследовал характерные вкусовые качества родителей (СКИ 8.0 о. е.)

Одна из основных особенностей айвы – более высокое содержание витаминов, выгодно отличающее ее от других семечковых культур, в том числе от яблони, которая в условиях юга России накапливает не более 14.5 мг/100 г (сорт Прикубанское, селекции СКЗНИИСиВ) витамина С, входящего в группу алифатических витаминов (производных лактонов ненасыщенных полиоксикарбоновых кислот), и 122.0 мг/100 г (Ред Делишес) полифенольных веществ, обладающих Р-витаминной активностью (Silva et al., 2006; Причко и др., 2015). Отдельные сорта айвы – Краснодарская крупная, Золотистая и новые – Аврора, Подарочная, Новогодняя – отличаются повышенным содержанием витамина С (более 26.6 мг/100 г) (табл. 5).

О биологической ценности плодов можно судить по накоплению полифенольных веществ, в том числе катехинов, обладающих Р-витаминной активностью. Основные функции катехинов заключаются в участии метаболизма витамина С, укреплении стенок кровеносных сосудов, увеличении сопротивляемости инфекциям. Среди функций фенольных соединений отмечены такие важные свойства, как защита фотосинтетического и генетического аппаратов клетки от повреждающего действия УФ-лучей.

Table 5. Contents of vitamins and P-active catechols in quince (*C. oblonga* Mill.) fruit, Krasnodar, 2010–2015

Variety	Content, mg/100 g	
	vitamin C	P-active catechols
Parental forms		
Azerbaijanskaya	20.0 ± 1.8	171.6 ± 12.4
Ahmed Zhum	19.3 ± 2.0	158.8 ± 9.2
Zolotistaya	28.4 ± 2.8	188.0 ± 11.6
Ispolinskaya	26.5 ± 3.2	168.2 ± 10.3
Kaunchi 8 (control)	26.5 ± 3.0	184.8 ± 12.8
Kubanskaya	19.5 ± 1.4	196.0 ± 12.6
Krasnodarskaya krupnaya	30.6 ± 3.8	166.0 ± 8.5
Muskatnaya	19.7 ± 1.6	200.2 ± 14.0
Yantarnaya	22.2 ± 3.0	124.6 ± 8.6
Elita No. 17	22.5 ± 2.6	124.0 ± 8.0
Mean	23.6	168.2
New cultivars		
Avrora	26.6 ± 1.9	162.8 ± 14.2
Dyuna	22.4 ± 1.0	172.6 ± 16.0
Zoloto skifov	26.6 ± 1.6	138.8 ± 10.0
Zolotoy shar	22.5 ± 1.8	147.0 ± 12.8
Kubanochka	24.4 ± 1.4	225.5 ± 20.4
Naslednitsa	28.3 ± 1.8	138.0 ± 9.6
Nivushka	15.0 ± 0.9	181.5 ± 10.0
Novogodnyaya	33.3 ± 2.8	222.7 ± 20.0
Podarochnaya	32.3 ± 3.0	196.8 ± 18.2
Rumo	22.7 ± 2.0	159.0 ± 12.5
Sofya	20.4 ± 1.8	146.6 ± 10.4
Urozhaynaya kubanskaya	20.7 ± 0.9	134.6 ± 10.0
Mean	24.6	168.8

Селекционные сорта айвы юга России характеризуются довольно высоким содержанием катехинов. Максимальное значение Р-активных катехинов имеют новые сорта Новогодняя и Кубаночка (более 222.0 мг/100 г), Подарочная (196.8 мг/100 г), а также сорта Мускатная (200.0 мг/100 г) и Золотистая (188.0 мг/100 г), использованные в качестве родительских форм.

Значительное варьирование в содержании Р-активных катехинов в зависимости от года исследований отмечено в плодах сорта Кубанская (127.0–272.0 мг/100 г), Аврора (150.0–238.0 мг/100 г), Урожайная кубанская (159.0–260.0 мг/100 г).

Общую антиоксидантную активность плодов айвы, кроме полифенолов и аскорбиновой кислоты, формируют мономерные соединения фенола, куда входят группа окислительных кислот (галловая) и производные коричной кислоты (кофейная, хлорогеновая). Установлено, что их количественный состав представлен в основном хлорогеновой кислотой (до 41.2 мг/100 г), меньше всего содержится галловой кислоты (не более 0.7 мг/100 г), а содержание кофейной кислоты составляет 5.7 мг/100 г.

Выделение и применение в качестве родительских форм сортов с высоким содержанием витаминов может способствовать получению наследуемых сортов с высокими показателями витаминного состава, часто превосходящих родительские формы. Такие закономерности отмечены и при исследовании Р-активных катехинов. При вовлечении в селекцию сортов Азербайджанская и Мускатная, содержащих 171.6 и 200.2 мг/100 г катехинов соответственно, в полученном потомстве (сорт Новогодняя) среднее количество катехинов составляло 222.0 мг/100 г.

Обсуждение

Районированный в Краснодарском крае сортимент айвы состоит из 18 крупноплодных сортов, в том числе 4 сортов селекции СКЗНИИСиВ: Аврора (Исполинская × Каунчи 8), Золото скифов (Каунчи 8, св. оп.), Подарочная (св. оп. гибрида № 17), Урожайная кубанская (Исполинская × Каунчи 8).

В Государственный реестр селекционных достижений юга России входят также сорта кубанской селекции: Золотистая (выделен кафедрой плодоводства Кубанского аграрного университета); Янтарная краснодарская, Солнечная (выделены Крымской опытной станцией ВИР из местных форм айвы) (Государственный реестр…, 2015).

Основными неблагоприятными факторами, влияющими на показатели адаптивности айвы к условиям окружающей среды в Краснодарском крае, являются критические или близкие к ним низкие температурные воздействия в зимний период, резкие перепады температуры после оттепелей в конце зимы, поздние весенние возвратные заморозки.

Исследования последних лет показали, что отдельные сорта, созданные селекционным путем с определенными наследственными, морфологическими, биологическими и хозяйственными признаками, способны выдерживать более низкие температуры (Баскакова, 2004; Толстолік, Красуля, 2005). Поэтому при подборе пар для скрещивания в качестве материнского компонента следует брать более зимостойкие сорта, хотя и другие сочетания при различии генотипов могут дать положительные результаты.

Несмотря на возросший уровень адаптированных к условиям выращивания новых сортов айвы в Краснодарском крае, иногда отмечается гибель плодовых растений от эндогенных условий окружающей среды (сильные морозы зимой, часто повторяющиеся возвратные заморозки весной, стрессовые погодные условия летом, сопровождающиеся жарой, суховеями, недостатком влаги).

В связи с этим ставилась задача – создать сорта, адаптированные к местным климатическим и почвенным условиям выращивания. Были подобраны родительские пары для скрещивания с учетом известных генетических данных каждого сорта: Исполинская – крупноплодность, Каунчи 8 – качество плодов, Золотистая, Мускатная – урожайность, высокая зимостойкость и засухоустойчивость, Кубанская – сдержанность роста дерева, технологические качества плодов. Кроме того, при создании сортов была учтена устойчивость родительских форм к физиологическим заболеваниям.

Среди представителей рода *Cydonia oblonga* Mill. выделены новые сорта с горизонтальной устойчивостью к монилиозу, поражение которых даже в эпифитотийные годы не превышает двух баллов: Новогодняя, Урожайная кубанская, Софья, Мускатная, Нивушка.

Результаты генетического анализа признаков по коэффициенту наследуемости, а также оценка общей комбинационной способности (ОКС) позволили оценить генетические особенности родительских форм и их гибридных комбинаций и отобрать наиболее перспективные генотипы. Высокие значения коэффициентов наследуемости (ОКС > 50 %) с использованием сорта Золотистая, участвующего в создании сорта Дюна, указывают на то, что он может выступать в качестве источника при подборе комбинаций для скрещиваний по зимостойкости и качеству плодов (Можар, 2008).

Большинство сортов айвы отечественной селекции и интродуцированные гетерозиготны в отношении признаков «форма» и «масса» плода».

Отмечено, что по признаку «масса плодов» при скрещивании сортов с крупными и средними плодами получено расщепление по математической модели 1 : 2 : 1 (крупные : средние : мелкие плоды). При скрещивании сортов, имеющих среднюю массу (не более 220.0 г) плодов, доминируют сеянцы с мелкими плодами (расщепление 3 : 1).

Положительная трансгрессия признака «масса плодов» проявляется не всегда, часть сортов имеют плоды, не превосходящие по размеру родительские формы. Так, при свободном опылении айвы сорта Мускатная, у которого средняя масса плода составляет 210.0 г, получен сорт Нивушка со средней массой плода 190.0 г, варьирующей от 178.0 до 220.0 г. Однако данный сорт отличается высокой урожайностью, превосходящей родительскую форму.

Установлено, что присутствие в генотипе доминантного аллеля одного гена придает яблоковидную форму плоду, рецессивное гомозиготное состояние по обоим генам соответствует грушевидной форме.

Выявлен доминантный характер яблоковидной формы с округлыми (индекс формы 0.95–1.05 о. е.), овальными (индекс формы менее 0.95 о. е.) плодами. У грушевидных форм (индекс более 1.1 о. е.) плоды округло-грушевидные (индекс 1.05–1.1 о. е.).

Сортимент айвы селекции СКЗНИИСиВ по техническим показателям отличается от сортов американской селекции, где в основном культивируются опушенные сорта: Dwarf Orange, Gamboa, Meeches Prolific, Orange, средняя масса которых составляет 120–150.0 г.

Товарные качества плодов айвы европейских стран по техническим показателям сопоставимы с сортами селекции СКЗНИИСиВ. Так, в Турции широкое распространение получил сорт Smyrna, имеющий очень ароматные и крупные плоды, в Испании выделены клоны MB 1, MB 2, MB 5, заявленные в UPOV (The International Union for

the Protection of New Varieties of Plants), отличающиеся крупными плодами (Sykes, 1975; Rodriguez-Guisado et al., 2006; Khoubnasabjafari, Jouyban, 2011).

Особую селекционную ценность имеют трансгрессивные генотипы, обладающие одновременно высокими товарными качествами и ценным химическим составом, в том числе содержанием сахаров, витаминов, полифенольных веществ, аминокислот (Причко и др., 2015).

Новые сорта кубанской селекции в среднем содержат 24.6 мг/100 г витамина С, что выше, чем в айве селекции Армении (13.9 мг/100 г), Молдовы (17.0 мг/100 г) и Нижнего Поволжья (21.7 мг/100 г) (Габриелян-Бекетовская, 1957; Астабацян, Бекетовская, 1984; Клименко, 2005).

Хорошо передают по наследству повышенное содержание витамина С сорта Янтарная, Мускатная, Ахмед Жум, Азербайджанская. Так, при свободном опылении сорта Янтарная, содержащего 22.2 мг/100 г аскорбиновой кислоты, получен сорт Наследница, в котором отмечено более 28.0 мг/100 г витамина С.

При использовании в качестве одной из родительских форм сорта Азербайджанская, содержащего 20.0 мг/100 г аскорбиновой кислоты, был создан высоковитаминный сорт Новогодняя (33.3 мг/100 г).

Применение в селекции этих сортов позволяет получить гетерозисный эффект, который заключается в превосходстве потомства по некоторым признакам и свойствам над исходными родительскими формами.

Исследование полифенольных веществ показало, что содержание Р-активных катехинов – наследственно обусловленный признак, который не зависит от формы плода (яблоковидная или грушевидная).

По результатам изучения коллекции айвы выделены сорта и формы – источники ценных признаков: «морозостойкость генеративных почек», «устойчивость к болезням», «стабильная урожайность», «высокое качество плодов», которые можно использовать в селекционных программах, а также для технологической переработки и продолжительного хранения.

Выводы

Исследования айвы различных помологических сортов позволили установить генотипические особенности исходных сортоформ айвы по важнейшим хозяйственно ценным признакам (продуктивности, товарным качествам и химическому составу и устойчивости к биотическим и абиотическим факторам среды), а также закономерности их наследования в потомстве. Отмечена селекционная перспектива семьи Исполинская × Каунчи 8 по получению крупноплодного материала.

Комплексное изучение биологических и хозяйственно ценных признаков перспективных сортов айвы, выделенных из коллекционных насаждений СКЗНИИСиВ, показало, что наиболее адаптированы к условиям внешней среды сорта Аврора, Золото скифов, Подарочная, Урожайная кубанская, Софья, рекомендованные для внедрения в производственные посадки Краснодарского края.

Успешное культивирование айвы в Краснодарском крае обусловлено биологическими особенностями – ежегодным плодоношением, поздним цветением, благодаря чему цветки не повреждаются весенними заморозками, высокой регенерационной способностью – поврежденные растения быстро восстанавливаются за один-два вегетационных периода.

Среди исследованных сортов наиболее урожайные (более 55.3 кг плодов с дерева) – новые сорта селекции СКЗНИИСиВ: Подарочная, Аврора, Золото скифов, а также интродуцированный сорт айвы Мускатная, взятый в качестве родительской формы.

Изучение генофонда айвы по химическому составу плодов и товарности – крупноплодности – позволяет рекомендовать сорта Софья, Аврора, Урожайная кубанская для использования в селекционных программах по созданию высококачественных сортов, адаптированных к условиям выращивания.

Установлены наследуемые признаки у айвы, характеризующие их товарные качества: «яблоковидная форма» и «величина плода». По результатам изучения генетического разнообразия сортов айвы были выделены сорта с наиболее стабильными техническими показателями (коэффициент вариации 8.5–10 %) – Новогодняя, Нивушка, Подарочная.

Плоды айвы отличаются высоким содержанием веществ, формирующих их химический состав. Выделены новые сорта – Подарочная, Золото скифов, а также сорт Краснодарская крупная, взятый в качестве родительской формы, – содержащие более 16.0 % растворимых сухих веществ и более 10.9 % сахаров, а также новые сорта с высоким содержанием аскорбиновой кислоты – Золотистая (28.4 мг/100 г), Новогодняя (33.3 мг/100 г), Подарочная (32.3 мг/100 г) и высоким содержанием Р-активных катехинов – Кубаночка (225.0 мг/100 г), Новогодняя (222.2 мг/100 г), Подарочная (196.8 мг/100 г), что позволяет рекомендовать их для производственного испытания в различных зонах Северного Кавказа, а также для использования в селекционных программах по созданию высококачественных сортов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Adler M. Quince (*Cydonia oblonga* Mill.) and its growing and economic descriptions. Proc. of the 9th Int. Conf. of Horticulture, Lednice. Grech Republic. Sept. 2001;1:3-7.

Astabatsyan G.A., Beketovskaya E.A. Biologically active substances in quince fruit. Sadovodstvo = Horticulture. 1984;10:23-24. (in Russian)

Bartish I.V., Rumpunen K., Nybom H. Genetic diversity in *Chaenomeles* (Rosaceae) revealed by RAPD analysis. Plant Syst. Evol. 1999;214:131-145.

Baskakova B.L. Evaluation of hybrid seedlings of quince. Ways of improving the stock of fruit, subtropical, and nut crops for industrial horticulture in southern Ukraine. Yalta, 2004;122:97-100. (in Russian)

Ermakov A.I., Voskresenskaya V.V. Metodicheskie ukazaniya po opredeleniyu khimicheskikh veshchestv dlya otsenki kachestva urozhaya ovoshchnykh i plodovykh kul'tur [Guidelines for the quantitation of chemicals for assessing the quality of vegetable and fruit crops]. Leningrad, VIR Publ., 1979. (in Russian)

Gabrielyan-Beketovskaya E.A. Ayva Armyanskoy SSR [Quince in Armenian SSR]. Yerevan: Publishing House of the Central Administration of Science of the Ministry of Agriculture of the Armenian SSR, 1957. (in Russian)

GOST 21715-2013. Ayva svezhaya. Tekhnicheskie usloviya [State Standard 21715–2013. Fresh quince. Specifications]. Moscow, Standartinform Publ., 2011. (in Russian)

GOST ISO 750-2013. Produkty pererabotki fruktov i ovoshchey. Opredelenie titruemoy kislotnosti [State Standard ISO 750–2013. Processed fruit and vegetables. Determination of titratable acidity]. Moscow, Standartinform Publ., 2014. (in Russian)

Gosudarstvennyy reestr selektsionnykh dostizheniy, dopushchennykh k ispol'zovaniyu. Sorta rasteniy (ofitsial'noe izdanie) [State Register of Breeding Achievements Approved for Use. Plant cultivars (official publication)]. Moscow: Rosinformagrotekh Publ., 2013;1–392. (in Russian)

Khoubnasabjafari M., Jouyban A. A review of phytochemistry and bioactivity of quince (*Cydonia oblonga* Mill.) J. Med. Plant. Res. 2011;5(15):3577-3594.

Klimenko S.W. Formirovanie kollektsionnykh i selektsionnykh fondov netraditsionnykh plodovykh rasteniy v Natsional'nom botanicheskom sadu NAN Ukrainy (1960–2005 gg.). [Formation of breeding collections of unconventional fruit plants in the National botanical garden of the National Academy of Sciences of Ukraine (1960–2005)]. Introdukcija roslyn na pochatku XXI st.: dosjagnennja i perspektyvy rozvytku doslidzhen'. Mater. mizhnar. nauk. konf., prysvjach. 70-richchju Nac. botan. sadu im. M.M. Gryshka NAN Ukrai'ny 19–21 veresnja 2005 [Proc. Int. Conf. "Plant introduction at the beginning of the 21st century: achievements and development prospects" dedicated to the 70th anniversary of the Grishko National botanical garden of the National Academy of Sciences of Ukraine, September 19–21, 2005]. Kyiv, 2005;38-41. (in Ukrainian)

Klimenko S.W. Ajva zvychajna (*Cydonia oblonga* Mill.) v lisostepu Ukrai'ny i pidsumky introdukcii' i selekcii [Common quince (*Cydonia oblonga* Mill.) in the forest-steppe of Ukraine and results of its introduction and breeding]. Aktual'ni problemy prykladnoi' genetyky, selekcii' ta biotehnologii' roslyn [Current problems in applied plant genetics, breeding, and biotechnology]. Yalta, 2009;2:117-122. (in Ukrainian)

Krasova N.G., Glazova N.M. Rol' sortovogo fonda VNIISPK v sovershenstvovanii sortimenta semechkovykh kul'tur. [Role of the VNIISPK collection of varieties in the improvement of the stock of pome crops]. Mater. mezhdunar. nauch.-metod. konf., 12–15 iyulya 2005 g. Orel [Proc. Int. Research Methodology Conference "State and prospects of the breeding and study of fruit crops". Orel, July 12–15, 2005]. VNIISPK Publ., 2005;41-56. (in Russian)

Lyle S. A comprehensive guite to the cultivation, uses and health benefits of over 300 food-producing plants. *Cydonia oblonga*. Portland, Oregon, USA: Timber Press Inc. The Haseltine Building, 2006; 170-172.

Mozar N.W. Zakonomernosti nasledovaniya selektsionno-tsennykh priznakov i svoystv v gibridnykh populyatsiyakh ayvy. Optimal'nye ekonomicheskie parametry biologo-tekhnologicheskikh sistem [Regularities in the inheritance of commercial traits and properties in hybrid quince populations. The optimal economic parameters of biotechnological systems]. Krasnodar, 2008;44-48. (in Russian)

Mozar N.W. Quince. The modern methodological views of breeding process organization in horticulture and viticulture. Krasnodar, North-Caucasus Zonal Scientific-Research Institute of Horticulture and Viticulture Publ., 2012;296-300. (in Russian)

Nen'ko N.I. (Ed.). Sovremennye instrumental'no-analiticheskie metody issledovaniya plodovykh kul'tur i vinograda [modern instrumental analytical techniques for the study of fruit crops and grapes]. Krasnodar, North-Caucasus Zonal Scientific-Research Institute of Horticulture and Viticulture Publ., 2015. (in Russian)

Prichko T.G. Khimiko-tekhnologicheskaya otsenka plodov [Chemical and technological evaluation of fruits]. Prichko T.G., Chalaya L.D. Sovremennye metodologicheskie aspekty organizatsii selektsionnogo protsessa v sadovodstve i vinogradarstve [Modern methodological aspects of the organization of the breeding process in horticulture and viticulture]. Krasnodar, 2012;220-233. (in Russian)

Prichko T.G. Khimicheskiy sostav plodov perspektivnykh i rayonirovannykh sortov yabloni selektsionnykh nasazhdeniy. Innovatsionnye tendentsii i sorta dlya ustoychivogo razvitiya sadovodstva [The chemical compositions of fruits of promising and released apple varieties in breeding plots]. Sovremennye metodologicheskie aspekty organizatsii selektsionnogo protsessa v sadovodstve i vinogradarstve [Proc. Appl. Sci. Conf. "Novel trends and cultivars for the sustainable development of horticulture" dedicated to the 110th anniversary of S.P. Kedrin]. Samara. 2015;170-177. (in Russian)

Programma i metodika selektsii plodovykh, yagodnykh i orekhoplodnykh kul'tur [The program and methods of breeding of fruit, berry, and nut crops]. Orel, 1995. (in Russian)

Programma i metodika sortoizucheniya plodovykh, yagodnykh i orekhoplodnykh kul'tur [The program and methods of the investigation of fruit, berry and nut cultivars]. Orel, 1999. (in Russian)

Rodriguez-Guisado I., Melgarejo P., Hernandez F., Martínez J., Martínez-Font R., Legua P. Characterization of three quince clones (*Cydonia oblonga* Mill.) native to south-eastern Spain. Abstr. Int. Symp. on Pomegranate and minor mediterranean fruits. Adana, Turkey, oct. 16-19, 2006. Adana, 2006;33.

Salash P., Rjenicek V. Vyrashchivanie ayvy i ee khozyaystvennoe ispol'zovanie [Quince cultivation and commercial use]. Sovremennye nauchnye issledovaniya v sadovodstve [Proc. VIII Int. Conf. on Horticulture "Modern scientific researches in horticulture"]. Yalta, Nikitskiy Botanical Garden Publ., 2000;3:164-168. (in Ukrainian)

Sedov E.N. Breeding of fruit and berry crop varieties in CMEA countries. Sadovodstvo i vinogradarstvo = Horticulture and Viticulture. 1989;1:46. (in Russian)

Silva B.M., Andrade P.B., Martins R.C., Seabra R.M., Ferreira M.A. Principal component analysis as tool of characterization of quince (Cydonia oblonga Miller) jam. J. Food Chem. 2006;94:504-512.

Sykes J.T. Quince cultivare from Western Turkey. Fruit Variet. Hort. Dig. 1975;25(4):77-80.

Tolstolik L.M., Krasulya T.I. Sorty – nosii' cinnyh oznak ajvy dlja adaptyvnoi' selekcii' [Quince varieties carrying features valuable for adaptive selection]. Mizhnar. nauk.-prakt. konf. "Genetychni resursy dlja adaptyvnogo roslynnyctva" [Proc. Appl. Sci. Conf. "Genetic resources for the adaptive breeding". Jun 29–Jul.1, 2005]. Obroshino, 2005;190-191. (in Ukrainian)

Vitkovskiy V.L. Plodovye rasteniya mira [Fruit plants of the world]. St.-Petersburg, Lan' Publ., 2003;89-100. (in Russian)

Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):189-197
DOI 10.18699/VJ17.236

Полиморфизм RAPD- и ISSR-маркеров у зерновых видов амаранта

С.В. Лиманская[1], Л.А. Мирошниченко[2] ✉, Т.И. Гопций[1], О.С. Корнеева[2]

[1] Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева, Харьков, Украина
[2] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет инженерных технологий», Воронеж, Россия

В генетико-селекционных программах сельскохозяйственных культур для идентификации генотипов, составления генетических карт, изучения генетики, филогении и систематики растений используют различные молекулярно-генетические маркеры, это ускоряет селекцию и способствует эффективному изучению и сохранению генофонда культуры. С помощью RAPD- и ISSR-маркеров возможно быстро идентифицировать большое количество локусов, что удобно при изучении генетической структуры популяций и проведении эволюционных и филогенетических исследований. С целью изучения генетического полиморфизма зерновых видов рода *Amaranthus* L. по молекулярно-генетическим маркерам и возможностей их практического использования проанализировано 18 коллекционных образцов сортов и популяций разного эколого-географического происхождения. Молекулярно-генетический анализ амаранта позволил выявить высокий уровень полиморфизма ДНК-маркеров (около 85 %). Внутрипопуляционный полиморфизм, установленный с применением RAPD-маркеров, составил от 36.4 до 63.6 %, ISSR – 40.0–65.9 %. Также идентифицировано 203 локуса, из которых 173 оказались полиморфными, 30 – мономорфными (встречались во всех исследованных генотипах), 13 – уникальными (встречались только у какого-либо одного генотипа). Рассчитаны генетические дистанции, значения которых по результатам RAPD-анализа варьировали от D_{ij} = 0.0009 между популяциями 00038 и 00110 вида *A. hybridys* L. до D_{ij} = 0.0141 между сортом Харьковский-1 (*A. hypochondriacus* L.) и популяцией 00097 (*A. hybridus* L.). По результатам ISSR-анализа генетические дистанции варьировали от D_{ij} = 0.0018 между сортом Харьковский-1 и популяцией К-61 вида *A. hypochondriacus* L. до D_{ij} = 0.0113 между популяциями К-146 (*A. caudatus* L.) и 00039 (*A. hybridus* L.). Установлено генетическое родство зерновых видов амаранта, подтверждена монофилетическая теория их происхождения. Доказано, что *A. mantegazzianus* Passer. является подвидом *A. caudatus* L. Детектированные уникальные и мономорфные локусы ДНК могут быть использованы для разработки специфических генетических маркеров для идентификации растительного материала и контроля генетической изменчивости амаранта.

Ключевые слова: зерновые виды амаранта; полиморфизм ДНК; RAPD; ISSR; генетическое родство; монофилетическая теория.

Polymorphism of RAPD and ISSR markers in grain amaranth species

S.V. Lymanska[1], L.A. Miroshnichenko[2] ✉, T.I. Goptsiy[1], O.S. Korneeva[2]

[1] V.V. Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University, Kharkiv, Ukraine
[2] Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia

Different molecular genetic markers are effectively used in agricultural genetic selection programs. Genetic markers can be used in commercial breeds certification performance, fast and reliable genotype identification, genetic maps creation, genetics, phylogeny and plant systematic studies, which can accelerate selection, provide effective study and culture genofond maintenance. Amaranth, in this regard, has not been studied well, there is not enough data to effectively perform amaranth marker selection or for the certification of new and existing varieties; there are inaccuracies in the systematization of the crop. Important are the questions about the origin of grain amaranth species and the processes of their evolutionary formation. Amaranth is a pseudo-cereal with a millennia-long history, it has been actively cultivated in many countries around the world in recent decades. A high level of alterability and the formation of a huge number of spontaneous hybrids in natural populations of amaranth significantly complicate the identification of individual genotypes and entire taxonomic units of *Amaranthus* L. Due to the lack of research and depending on the environmental conditions, the morphological markers of amaranth are not able to provide sufficient genomic information to the breeder; thus it is necessary to search for reliable genetic markers that allow the genetic diversity of the *Amaranthus* L. species to be studied and effectively maintained. This research includes grain amaranth species DNA polymorphism analysis. Using RAPD and ISSR technologies, 203 loci have been identified, of which 173 appear to be polymorphic, 30 monomorphic (found in all genotypes analyzed) and 13 unique (found only in one genotype). Unique and monomorphic DNA loci can be used as specific genetic markers, in particular, for the certification of breeds, which is especially important for the identification of plant material and plant genetic variability monitoring. A high level of DNA polymorphism was revealed (about 85 %), a genetic relationship between grain amaranth species

Received 25.02.2016
Accepted for publication 30.09.2016
© AUTHORS, 2017

✉ e-mail: lidamir@mail.ru

established, their monophyletic origin theory verified. *A. mantegazzianus* Passer. was proved to be an *A. caudatus* L. subspecies.

Key words: grain amaranth species; DNA polymorphism; RAPD; ISSR; genetic relationships; monophyletic theory.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:
Лиманская С.В., Мирошниченко Л.А., Гопций Т.И., Корнеева О.С. Полиморфизм RAPD- и ISSR-маркеров у зерновых видов амаранта. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):189-197. DOI 10.18699/VJ17.236

HOW TO CITE THIS ARTICLE:
Lymanska S.V., Miroshnichenko L.A., Goptsiy T.I., Korneeva O.S. Polymorphism of RAPD and ISSR markers in grain amaranth species. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(2):189-197. DOI 10.18699/VJ17.236

Амарант – псевдозерновая культура с тысячелетней историей, в последние десятилетия активно культивируется во многих странах мира. Растущий интерес к амаранту объясняется повышенным содержанием в нем белка (16–18 %), метионина и лизина (около 15.8 и 55.8 мг/г соответственно) по сравнению с традиционными зерновыми культурами, сбалансированным аминокислотным составом. Зерно амаранта считается хорошим источником нерастворимой клетчатки (4 %), липидов (6–8 %), богатым источником витаминов и минеральных веществ. Повсеместное выращивание этой засухоустойчивой высокопродуктивной культуры открывает перспективу использования амаранта для приготовления безглютеновых продуктов питания.

Значительное генетическое разнообразие рода *Amaranthus* L. обусловлено наличием в настоящее время более 60 видов амаранта (Costea, DeMason, 2001; Железнов и др., 2009). Высокий уровень изменчивости и образование огромного числа спонтанных гибридов в природных популяциях амаранта (Chan, 1997) существенно усложняют идентификацию отдельных генотипов и целых таксономических единиц рода *Amaranthus* L. Неточности в систематике культуры обусловлены также существованием большого количества таксономических синонимов, которые авторы часто не принимают во внимание (Гопцій, 1999).

Тем не менее учеными определены основные виды амаранта, имеющие наибольшее хозяйственное значение. Различают зерновые, овощные, кормовые, декоративные виды амаранта. Однако такое разделение весьма условно, поскольку зерновые виды амаранта в фазу вегетативного роста могут использоваться как овощные, а при наличии соответствующих признаков любой вид амаранта может рассматриваться как лекарственный или декоративный. К зерновым видам традиционно относятся *A. cruentus*, *A. caudatus*, *A. hypochondriacus* и их предполагаемый предшественник *A. hybridus*. Эти виды дискретны по морфологическим признакам вегетативных (тип и окраска листьев и соцветий) и генеративных (строение цветков, их форма и размеры) органов (Гопцій, 1999). Между тем ученые отмечают генетическую близость зерновых видов амаранта (Chan, 1997; Mandal, Das, 2002; Faseela, Salikutty, 2007), что обусловливает ряд вопросов относительно их эволюционного становления и филогенетического развития. В связи с этим возникает необходимость вовлечения в генетико-селекционные работы по амаранту методов, позволяющих эффективно решать проблемы относительно филогении амаранта, а также различных аспектов прикладной генетики и систематики культуры.

Одним из таких методов является применение генетических маркеров. Насыщение генома амаранта различными типами генетических маркеров позволит генотипировать растительный материал, контролировать уровень генетической изменчивости у сортов амаранта, способствовать пониманию эволюционных и филогенетических процессов, происходящих в пределах рода. Из-за недостаточной изученности и зависимости от условий окружающей среды морфологические маркеры у амаранта не способны обеспечить селекционера достаточной геномной информацией, поэтому необходим поиск надежных молекулярно-генетических маркеров, позволяющих изучать и сохранять генетическое разнообразие рода *Amaranthus* L. Различные молекулярно-генетические маркеры все чаще используются в генетико-селекционных программах амаранта. Так, M.A. Mallory с коллегами (2008) и P.J. Maughan с коллегами (2011) на базе SSR- и SNP-маркеров построили первые генетические карты амаранта. T. Ray и S. Roy (2008) с использованием ДНК-технологий удалось маркировать ген *AmA1*, отвечающий за синтез высококачественного белка у амаранта. Проводятся исследования по секвенированию генома амаранта, в том числе генов, детерминирующих хозяйственно ценные признаки (Riggins et al., 2010), и разработке на основе секвенированных участков видоспецифических маркеров (Maughan et al., 2011; Park, Nishikawa, 2012; Park et al., 2014), применяемых в изучении филогении видов рода *Amaranthus* L.

С целью более детального изучения генетической изменчивости коллекции амаранта в настоящей работе применяли метод молекулярно-генетического анализа с использованием RAPD- и ISSR-маркеров. RAPD-технология (Randomly Amplified Polymorphic DNA), невзирая на низкую специфичность, доминантную природу проявления, повышенную чувствительность к условиям реакции и недостаточно высокую воспроизводимость результатов, имеет ряд преимуществ перед другими маркерными системами: быстрота и простота метода, использование произвольных 10-нуклеотидных праймеров, универсальных для разных видов и родов живых организмов, низкая себестоимость в сравнении с другими маркерными системами (Матвеева и др., 2011). Кроме того, RAPD – это полилокусная система, позволяющая анализировать сразу значительную часть генотипа, что достаточно удобно при изучении генетической структуры популяций, установлении родственных связей между таксонами, сравнении геномов разных групп организмов. ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats) – также полилокусная система, которая за счет удлинения праймера и

повышения температуры отжига характеризуется более высокой точностью и воспроизводимостью результатов в сравнении с RAPD, сохраняя при этом относительно невысокую себестоимость. Обе маркерные системы могут быть использованы как экспресс-метод установления генетического полиморфизма, это особенно актуально для мало изученных таксономических групп, и как источник локус-специфических SCAR-маркеров (Sequence Characterized Amplified Region), что весьма успешно было реализовано для рода *Amaranthus* L. (Ray, Roy, 2009).

RAPD- и ISSR-маркеры применяются в генетике, филогенетике и селекции амаранта для изучения генетического разнообразия и дифференциации генотипов (Stefunova, 2008; Алексеева и др., 2010; Štefunova et al., 2015), генотипирования мутантных форм амаранта, полученных при помощи гамма-облучения семян (Labajová et al., 2011; Ražná et al., 2012), исследования филогенетических процессов в популяциях различных видов амаранта (Xu, Sun, 2001; Ray, Roy, 2009; Fatinah et al., 2012). Однако, несмотря на указанные достижения мировой науки, амарант все еще остается мало изученным с точки зрения молекулярной генетики. Недостаточно данных для эффективного ведения маркерной селекции амаранта и паспортизации новых и существующих сортов, имеют место неточности в систематике культуры. Нерешенной остается проблема происхождения зерновых видов амаранта и процессов их эволюционного становления.

Целью нашего исследования стало изучение генетического полиморфизма зерновых видов рода *Amaranthus* L. по молекулярно-генетическим маркерам и возможностей их практического использования.

Материалы и методы

Растительный материал представлен коллекцией амаранта, включающей 6 сортов и 12 популяций разного эколого-географического происхождения, отнесенных к зерновым видам (*A. caudatus* L., *A. cruentus* L., *A. hybridus* L., *A. hypochondriacus* L., *A. mantegazzianus* Passer.) (табл. 1). Популяции К-61, К-146 и К-22 получены из Всероссийского института растениеводства им. Н.И. Вавилова. Популяции 00038, 00039, 00050, 00079, 00087, 00097, 00110, Багряный и Кармен предоставлены Устимовской опытной станцией Института растениеводства им. В.Я. Юрьева. Семена сортов амаранта Лера, Студенческий, Харьковский-1, Роганский, Вогняна кулька, Ультра селекции Харьковского национального аграрного университета им. В.В. Докучаева получены на кафедре генетики, селекции и семеноводства этого университета. В данной коллекции образцы различались по морфологическим признакам (окраска семян, метелок, листьев), длительности вегетационного периода, ценным хозяйственным признакам (продуктивность семян, содержание масла в семенах и др.).

Использованная в настоящем исследовании коллекция вовлечена в селекционный процесс по созданию адаптивных и высокоурожайных сортов амаранта.

С целью изучения полиморфизма ДНК амаранта применяли 10 RAPD-праймеров, среди которых Р-28, Р-37, Р-39, Р-52 разработаны авторами работы (Сиволап, 1998), а праймеры OPF-10, OPA-11, OPP-10, OPW-04, OPW-06, OPW-10 – фирмой Operon Technologies, США (табл. 2). Для ISSR-анализа коллекции амаранта использовали семь праймеров к межмикросателлитным последовательностям ДНК: ISSR 2, ISSR 3, ISSR 810, ISSR 825, ISSR 826, ISSR 834, ISSR 842 (University of British Columbia, Канада) (см. табл. 2).

ДНК выделяли из смеси 10 зрелых семян амаранта каждого образца CTAB методом, описанным в работе (Murray, Thompson, 1980). Анализировали семена 30 растений каждого образца. Концентрацию ДНК определяли при помощи спектрофотометра Shimadzu Uvmini 1240.

Амплификацию проводили с использованием наборов для ПЦР GenePak^{tm} PCR Core (ООО «Лаборатория ИзоГен», Россия). В пробирки из указанных наборов, содержащих лиофилизированные сухие реакционные смеси, готовые для проведения ПЦР, добавляли 20 нг выделенной ДНК, 0.2 мкМ праймера, затем реакционную смесь растворителем из набора для ПЦР доводили до 20 мкл. ПЦР проводили на четырехканальном термостате ТП4-ПЦР-01-«Терцик» при условиях: 1) RAPD-анализ: 1 цикл – денатурация при 94 °С – 5 мин; 45 циклов: 94 °С – 1 мин, отжиг – 36 °С – 1 мин, элонгация – 72 °С – 2 мин; 1 цикл – финальная элонгация, 72 °С – 7 мин; 2) ISSR-анализ: 1 цикл – денатурация при 94 °С – 5 мин; 40 циклов: 94 °С – 30 с, отжиг – 52 °С – 45 с, элонгация – 72 °С – 2 мин; 1 цикл – финальная элонгация, 72 °С – 7 мин. ПЦР с каждым праймером на ДНК, выделенной из каждого образца амаранта, выполняли в двукратной повторности.

Электрофорез продуктов амплификации проводили в 2 % агарозном геле в присутствии бромистого этидия. В работе использовали Трис-ЭДТА-боратную буферную систему – 0.09 М Трис, 0.09 М H_3BO_3, 0.0031 М ЭДТА ($pH_3$8.3). Визуализацию спектров осуществляли при помощи трансиллюминатора TCP-20 MC с последующим фотографированием гелей. В качестве маркеров для определения размеров ампликонов использовали 1 kb DNA ladder и pUC19/Msp 1.

Молекулярную массу продуктов амплификации вычисляли при помощи программного пакета TotalLab TL120.

По результатам молекулярно-генетического анализа были составлены бинарные матрицы для каждого праймера, в которых отмечали присутствие (1) или отсутствие (0) фрагментов с одинаковой молекулярной массой на электрофореграмме. Каждый RAPD- и ISSR-фрагмент рассматривался как отдельный генетический локус. Уровень полиморфизма по каждому праймеру определяли частью полиморфных локусов от общего количества локусов на праймер, выраженной в процентах. Внутрипопуляционный полиморфизм ДНК-маркеров определяли частью выявленных локусов у конкретного образца амаранта от общего количества идентифицированных локусов по каждому типу маркеров, выраженной в процентах. Генетическое разнообразие анализировали посредством вычисления генетических расстояний по M. Nei и W.-H. Li (1979). Кластеризацию и построение дендрограммы, демонстрирующей филогенетические отношения между изученными образцами амаранта, проводили методом Neighbor-joining (NJ) при помощи пакета программ Phylip-3.69. Достоверность полученного дерева филогенетических взаимоотношений проверяли с

Table 1. Origins of amaranth accessions

Accession no. in the catalogue of the National Center for Plant Genetic Resources of Ukraine	Population/variety designation	Amaranth species	Origin
UJ 5200055	00038	*A. hybridus* L.	USA
UJ 5200071	00039	*A. hybridus* L.	Germany
UJ 5200096	00050	*A. hypochondriacus* L.	
UJ 5200043	00079	*A. hybridus* L.	India
UJ 5200062	00087	*A. caudatus* L.	Russia
UJ 5200069	00097	*A. hybridus* L.	India
UJ 5200066	00110	*A. hybridus* L.	USA
UJ 5200001	Bagryanyy	*A. cruentus* L.	Russia
UJ 5200122	Karmen	*A. cruentus* L.	Ukraine
–	K-22	*A. hypochondriacus* L.	India
–	K-61	*A. hypochondriacus* L.	USA
UJ 5200170	K-146	*A. caudatus* L.	Germany
UJ 5200113	Roganskiy	*A. caudatus* L.	Ukraine
UJ 5200111	Vogniana kulka	*A. mantegazzianus* Passer.	
UJ 5200112	Ultra	*A. hybridus* L.	
UJ 5200171	Lera	*A. hypochondriacus* L.	
UJ 5200172	Studencheskiy	*A. hypochondriacus* L.	
UJ 5200110	Kharkovskiy 1	*A. hypochondriacus* L.	

Table 2. Nucleotide sequences of RAPD and ISSR primers used in the analysis of the amaranth collection

RAPD primer	Nucleotide sequence 5′–3′	ISSR primer	Nucleotide sequence 5′–3′
OPF-10	GGAAGCTTGG	ISSR 2	$(CA)_8AG$
OPA-11	CAATCGCCGT	ISSR 3	$(CA)_8GG$
OPP-10	TCCCGCCTAC	ISSR 810	$(GA)_8T$
OPW-04	CAGAAGCGGA	ISSR 825	$(AC)_8T$
OPW-06	AGGCCCGATG	ISSR 826	$(AC)_8C$
OPW-10	TCGCATCCCT	ISSR 834	$(AG)_8CTT$
P-28	CAAACGTCGG	ISSR 842	$(GA)_8CTG$
P-37	CTGACCAGCC		
P-39	CCAGTTCGCC		
P-52	AGGACTGGAC		

помощью bootstrap-анализа с использованием программы Phylip-3.69.

Результаты и обсуждение

Полиморфизм ДНК-маркеров зерновых видов амаранта

Молекулярно-генетические исследования позволили нам идентифицировать 118 RAPD-локусов, 100 из которых были полиморфными, а также 85 ISSR-локусов, среди которых полиморфными оказались 73. Примеры полученных спектров представлены на рис. 1 и 2. Следует отметить, что 30 локусов были мономорфными и выявлялись у всех изученных видов амаранта. Для праймера OF-10 обнаружены мономорфные фрагменты, включающие ~970, 750, 725 и 637 п. н.; для OPA-11 ~350 и 214 п. н.; для OPP-10 ~332 п. н.; OPW-06 ~995, 825 и 277 п. н.; для OPW-10 ~1520, 950, 880, 527 и 453 п. н.; для P-39 – 450 и 345 п. н. и для P-52 – фрагмент размером ~326 п. н.

Идентифицированы мономорфные фрагменты для праймеров: ISSR 2 – размером ~394 п. н., ISSR 3 ~578 п. н.; ISSR 810 ~563 п. н.; ISSR 825 – ампликоны размером ~466

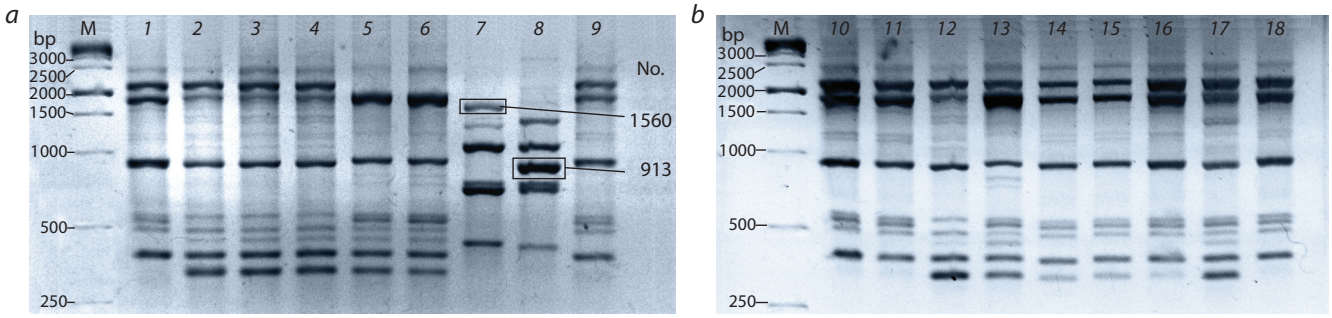


Fig. 1. Electrophoretic image of the amplification products of amaranth DNA with the OPW-04 primer.

Unique loci are indicated with numerals and boxes (bp). M is a marker of molecular weight (1-kb DNA ladder). Lanes: *1*, variety Ultra; *2*, variety Lera; *3*, variety Kharkovskiy-1; *4*, variety Studencheskiy; *5*, variety Roganskiy; *6*, variety Vogniana kulka; *7*, variety Karmen; *8*, population 00087; *9*, variety Bagryanyy (*a*); *10*, population 00038; *11*, population 00110; *12*, population K-61; *13*, population K-146; *14*, population 00050; *15*, population 00039; *16*, population 00097; *17*, population K-22; *18*, population 00079 (*b*).

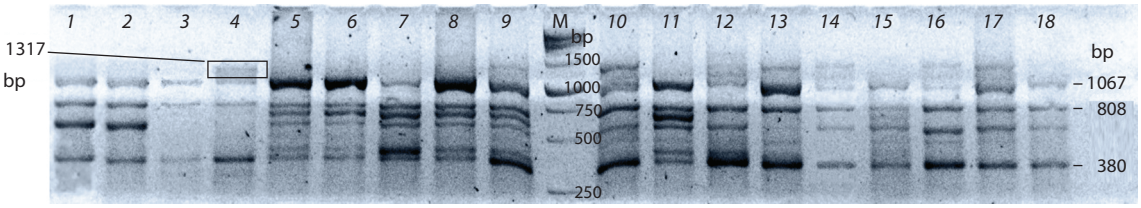


Fig. 2. Electrophoretic image of the amplification products of amaranth DNA with the ISSR 826 primer.

Monomorphic and unique loci are indicated with numerals (bp), the unique locus is boxed. M is a marker of molecular weight (1-kb DNA ladder). Lanes: *1*, variety Roganskiy; *2*, population 00087; *3*, population K-146; *4*, variety Vogniana kulka; *5*, variety Lera; *6*, variety Studenchesky; *7*, variety Kharkovsky-1; *8*, population K-61; *9*, population 00050; *10*, variety Bagryanyy; *11*, variety Karmen; *12*, population K-22; *13*, variety Ultra; *14*, population 00038; *15*, population 00039; *16*, population 00079; *17*– population 00097; *18*, population 00110.

и 3544 п. н.; ISSR 826 ~380, 808 и 1067 п. н.; ISSR 834 ~636 и 712 п. н., и ISSR 842 ~616 и 1297 п. н.

Мономорфные фрагменты могут быть консервативными участками ДНК и свидетельствовать о единстве происхождения зерновых видов амаранта. Для подтверждения этого предположения необходимо проведение дополнительных исследований с привлечением других видов амаранта и генетически близких таксонов. В случае их видовой консервативности мономорфные локусы могут быть секвенированы и использованы для разработки видоспецифических ДНК-маркеров генома зерновых видов амаранта.

Дальнейшие исследования были направлены на идентификацию уникальных участков ДНК, характерных только для какого-либо одного сорта или популяции. Так, у популяции 00039 обнаружены уникальные локусы OPA-11_{269}, ISSR 2_{414}, ISSR 825_{585}, ISSR 825_{1285}; у популяции Кармен – OPW-04_{1560}, P-37_{325}, ISSR 810_{1204}; у сорта Лера – OPA-11_{155}, OPW-06_{489}; у сорта Харьковский-1 – OPW-10_{346}; у сорта Вогняна кулька – ISSR 826_{1317}; у популяции 00087 – OPW-04_{913}; у популяции К-146 – уникальный локус ISSR 842_{997}. Уникальные локусы могут быть использованы для разработки специфических ДНК-маркеров, которые позволят паспортизировать соответствующие сорта и популяции амаранта.

Молекулярно-генетический анализ генетического разнообразия коллекции амаранта позволил установить высокий уровень полиморфизма ДНК-маркеров зерновых видов рода *Amaranthus* L., среднее значение которого составляло 85.0 и 81.9 % при использовании RAPD- и ISSR-праймеров (табл. 3).

С использованием RAPD-технологии минимальный уровень полиморфизма (70.6 %) выявлен при амплификации ДНК амаранта с праймером OPW-10; максимальный – 100 % – отмечен при амплификации с праймерами OPW-04, P-28 и P-37. Полиморфизм ДНК-маркеров амаранта по результатам ISSR-анализа оказался немного меньше и варьировал от 66.7 % при амплификации с праймерами ISSR 810 и ISSR 826 до 94.1 % при амплификации с праймером ISSR 2.

Полученные результаты согласуются с данными других авторов. Так, разные группы ученых отмечают полиморфизм RAPD-маркеров у различных видов амаранта на уровне 68–100 % (Ranade et al., 1997; Mandal, Das, 2002; Faseela, Salikutty, 2007); ISSR-маркеров – около 88 % (Stefunova, 2008). Это может свидетельствовать о том, что род *Amaranthus* L. – высокополиморфный и характеризуется значительным генетическим разнообразием форм, перспективных для селекции сортов амаранта различных направлений использования.

Внутрипопуляционный полиморфизм ДНК-маркеров у коллекционных образцов амаранта был несколько ниже и составлял в среднем по результатам RAPD-анализа 51.2 %, ISSR-анализа – 54.6 % (табл. 4).

Наибольшей полиморфностью RAPD-маркеров характеризовались сорта Харьковский-1 (61.0 %) и Лера (63.6 %) вида *A. hypochondriacus* L., в генотипе которых

Table 3. Polymorphism of RAPD and ISSR markers in grain amaranth species

RAPD-primer	Number of loci		ISSR primer	Number of loci		Polymorphism, %	
	overall	polymorphic		overall	polymorphic	RAPD	ISSR
OPF-10	19	15	ISSR 2	17	16	79.0	94.1
OPA-11	10	8	ISSR 3	11	10	80.0	90.9
OPP-10	6	5	ISSR 810	3	2	83.3	66.7
OPW-04	17	17	ISSR 825	13	11	100.0	84.6
OPW-06	13	10	ISSR 826	9	6	76.9	66.7
OPW-10	17	12	ISSR 834	11	9	70.6	81.8
P-28	6	6	ISSR 842	21	19	100.0	90.5
P-37	15	15				100.0	
P-39	10	8				80.0	
P-52	5	4				80.0	
Total	118	100		85	73	Average	
						85.0	81.9

Table 4. Polymorphism of RAPD and ISSR markers in the amaranth collection

Genotype	RAPD			ISSR		
	Number of loci detected		Polymorphism, %	Number of loci detected		Polymorphism, %
	In all amaranth species	In the particular accession		In all amaranth species	In the particular accession	
Roganskiy	118	55	46.6	85	39	45.9
00087	118	58	49.2	85	53	62.4
K-146	118	59	50.0	85	47	55.3
Vogniana kulka	118	49	41.5	85	50	58.8
Bagryanyy	118	62	52.5	85	42	49.4
Karmen	118	63	53.4	85	56	65.9
Ultra	118	61	51.7	85	39	45.9
00038	118	66	55.9	85	34	40.0
00039	118	66	55.9	85	37	43.5
00079	118	59	50.0	85	46	54.1
00097	118	43	36.4	85	46	54.1
00110	118	62	52.5	85	41	48.2
Lera	118	75	63.6	85	53	62.4
Studencheskiy	118	67	56.8	85	53	62.4
Kharkovskiy-1	118	72	61.0	85	49	57.6
K-22	118	51	43.2	85	54	63.5
K-61	118	69	58.5	85	49	57.6
00050	118	50	42.4	85	48	56.5
Average			51.2			54.6

идентифицировано, соответственно, 72 и 75 локусов из 118 возможных. Минимальный полиморфизм RAPD-локусов (36.4 %) установлен у популяции 00097, у которой идентифицировано 43 локуса из 118. Максимальный полиморфизм ISSR-маркеров отмечен у популяции Кармен (65.9 %), у которой выявлено 56 из 85 локусов. Минимальное количество ISSR-локусов (34 из 85) идентифицировано у популяции 00038, уровень полиморфизма составил 40.0 %.

Достаточно высокий уровень молекулярно-генетического полиморфизма свидетельствует о значительной генетической изменчивости коллекционных образцов

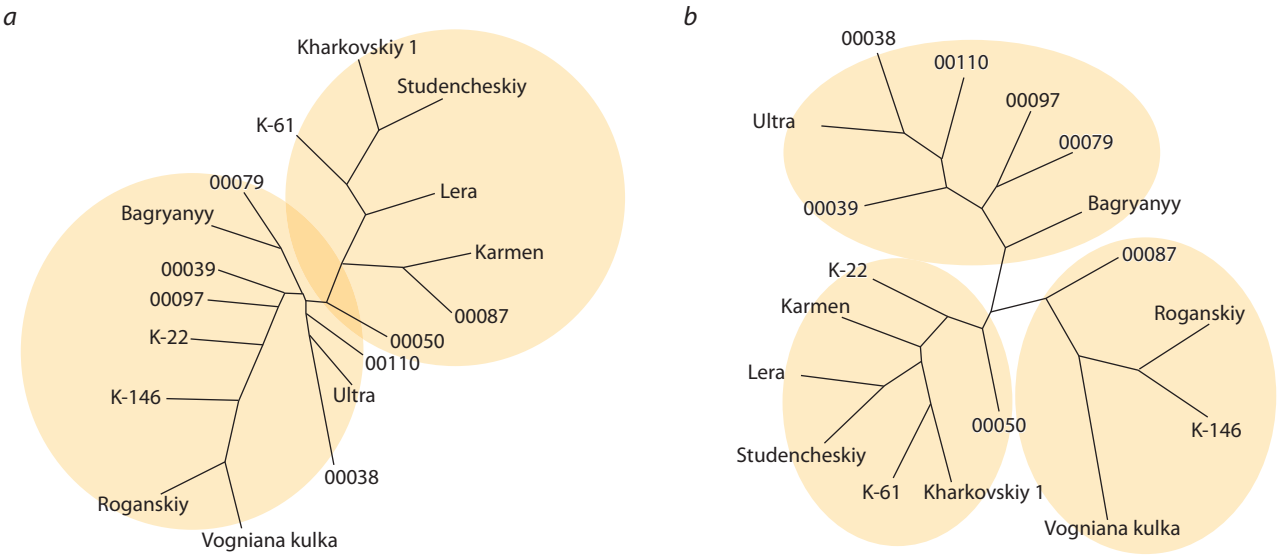


Fig. 3. Phylogenetic trees constructed from results of RAPD polymorphism estimation in the collection of amaranth varieties and populations. Clusters are boxed.

амаранта, что, очевидно, можно объяснить биологическими особенностями культуры, в частности способностью амаранта к перекрестному опылению. Полученные результаты также демонстрируют степень генетической дивергенции исследованных образцов, которая является как следствием природных эволюционных процессов, протекающих в популяциях амаранта, так и результатом действия селективного отбора.

Филогения зерновых видов амаранта

Выявление уровня генетического подобия среди таксонов позволит сделать предварительные выводы об эффективности применения метода гибридизации у разных образцов амаранта. Генетически близкие формы скрещиваются значительно легче, чем отдаленные. Однако во втором случае больше вероятность привнести новый генетический материал в гибридный организм, что является важной задачей селекционеров.

С целью выявления уровня генетической дивергенции между коллекционными сортами и популяциями по результатам молекулярно-генетических исследований нами был проведен филогенетический анализ коллекции амаранта. Рассчитаны генетические дистанции по M. Nei и W.-H. Li (1979), значения которых по результатам RAPD-анализа варьировали от D_{ij} = 0.0009 между популяциями 00038 и 00110 вида *A. hybridys* L. до D_{ij} = 0.0141 между сортом Харьковский-1 (*A. hypochondriacus* L.) и популяцией 00097 (*A. hybridus* L.). По результатам ISSR-анализа генетические дистанции варьировали от D_{ij} = 0.0018 между сортом Харьковский-1 и популяцией К-61 вида *A. hypochondriacus* L. до D_{ij} = 0.0113 между популяциями К-146 (*A. caudatus* L.) и 00039 (*A. hybridus* L.). В целом отмечен высокий уровень генетического подобия исследованных образцов амаранта.

На основании матрицы генетических расстояний построены филогенетические деревья (рис. 3), которые различались по количеству кластеров и особенностям группирования сортов и популяций амаранта в пределах каждого кластера.

По результатам RAPD-анализа коллекционные образцы амаранта были дифференцированы в два основных кластера. В первый вошли сорт Роганский, популяция К-146 (*A. caudatus* L.), сорт Вогняна кулька (*A. montegazzianus* Passer.), популяция Багряный (*A. cruentus* L.), популяции 00038, 00039, 00079, 00097, 00110, сорт Ультра (*A. hybridus* L.) и популяция К-22 (*A. hypochondriacus* L.). Во втором кластере оказались сорта Харьковский-1, Студенческий, Лера, популяции К-61, 00050 (*A. hypochondriacus* L.), Кармен (*A. cruentus* L.) и 00087 (*A. caudatus* L.).

ISSR-анализ позволил кластеризовать образцы амаранта в три группы. В первый кластер вошли все образцы вида *A. hybridus* L. (Ультра, 00038, 00039, 00079, 00097, 00110), а также популяция Багряный (*A. cruentus* L.). Второй кластер образован преимущественно образцами вида *A. hypochondriacus* L. (Лера, Студенческий, Харьковский-1, К-61, К-22, 00050). Сюда же вошла популяция Кармен (*A. cruentus* L.). Кластер 3 включает образцы 00087, К-146, сорт Роганский (*A. caudatus* L.) и сорт Вогняна кулька (*A. mantegazzianus* Passer.).

На обеих дендрограммах можно выделить похожие узлы: Ультра – 00038; К-146 – Роганский – Вогняна кулька; Лера – Студенческий – Харьковский-1 – К-61. Отметим, что образцы амаранта в пределах указанных подгрупп схожи не только по видовой принадлежности, но и по ряду морфологических и хозяйственных признаков, центру происхождения. Так, Ультра и 00038 (*A. hybridus* L.) – низкорослые и раннеспелые, со светлыми листьями, стеблями и метелками. Сорта Лера, Студенческий, Харьковский-1 и популяция К-61 (*A. hypochondriacus* L.) берут начало от форм с пурпурными соцветиями, интродуцированных из США. У этих образцов белые с мучнистым эндоспермом семена, крупные листья, плотные метелки, высокая урожайность семян, длительность вегетационного периода составляет около 115 дней. Популяция К-146, сорта

Роганский и Вогняна кулька характеризуются светло-зелеными листьями, светлыми семенами со стекловидным эндоспермом, густым расположением цветков на веточках соцветия. Кластеризация сорта Вогняна кулька (*A. mantegazzianus* Passer.) в один блок с образцами вида *A. caudatus* L. по двум типам маркеров, а также незначительный уровень генетической дивергенции между этими образцами могут служить подтверждением мнения, что *A. mantegazzianus* Passer. – не самостоятельный вид, а разновидность *A. caudatus* L.

Популяции Кармен и Багряный, относящиеся к виду *A. cruentus* L., на обеих дендрограммах расходились в разные кластеры, не создавая отдельной видовой группы: Кармен – в кластер, образованный образцами вида *A. hypochondriacus* L., Багряный – образцами вида *A. hybridus* L. Данный факт может свидетельствовать о наличии в геноме *A. cruentus* L. локусов, специфических для указанных видов. Это, в свою очередь, может характеризовать *A. cruentus* L. как переходную форму между *A. hybridus* L. и другими зерновыми видами амаранта и служить подтверждением монофилетической теории их происхождения (Sauer, 1976).

Различия топологии полученных деревьев связаны, скорее всего, с разной дифференцирующей способностью использованных маркерных систем. ISSR-маркеры выявляли большую специфичность и позволили более четко распределить изучаемые коллекционные образцы в кластеры в соответствии с их видовой принадлежностью, морфологическими особенностями и уровнем генетической дивергенции. Следовательно, данная маркерная система более эффективна для генетических и филогенетических исследований амаранта по сравнению с RAPD-технологией.

Полученные нами результаты свидетельствуют о генетической близости зерновых видов амаранта и подтверждают монофилетическую теорию их происхождения, предложенную J.D. Sauer (1976), согласно которой вид *A. hybridus* L. – прародитель зерновых видов амаранта, *A. cruentus* L. – продукт первичной доместикации от *A. hybridus* L. в Центральной Америке. Появление видов *A. caudatus* L. и *A. hypochondriacus* L. автор связывает с многократным переопылением, соответственно, *A. cruentus* L. и *A. quitensis* L. – на юге, а также *A. cruentus* L. и *A. powellii* L. – на севере. Вид *A. cruentus* L. – некое переходное звено эволюции зерновых видов амаранта, что отображено в полученных нами филогенетических деревьях. Большинство ученых, занимающихся разработкой проблемы филогенеза амаранта, придерживаются этой теории (Chan, 1997; Ranade et al., 1997; Mallory et al., 2008; Stefunova, 2008; Ray, Roy, 2009).

Таким образом, RAPD- и ISSR-анализ коллекции амаранта позволил выявить высокий уровень полиморфизма изучаемого растительного материала. Получено подтверждение монофилетической гипотезы происхождения зерновых видов амаранта, установлена незначительная филогенетическая их дивергенция. Детектированы уникальные и мономорфные локусы ДНК, которые могут быть использованы для разработки специфических генетических маркеров, в частности для паспортизации сортов, что особенно важно при идентификации растительного материала и контроле генетической изменчивости растений. На основании полученных результатов доказано, что *A. mantegazzianus* Passer. – подвид *A. caudatus* L.

Установлена большая информативность ISSR-маркеров по сравнению с RAPD для филогенетических исследований, оценки генетического разнообразия и скрытой изменчивости популяций амаранта.

Полученные результаты позволяют дополнить информацию по частной генетике амаранта.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Alekseeva E.I., Vlasova A.B., Yukhimuk A.N. Physicochemical characterization of amaranth varieties and their genetic differentiation. Trudy BGU = Proceedings of the Belarusian State University. 2010;5(2):127-133. (in Russian)

Chan K.F. Phylogenic relationships and genetic diversity detected by RAPD and isozyme analysis of crop and weedy species of amaranthus. M. Phil. Thesis. 1997. Available at http://hdl.handle.net/10722/32162.

Costea M., DeMason D. Stem morphology and anatomy in *Amaranthus* L. (Amaranthaceae) – taxonomic significance. J. Torr. Bot. Soc. 2001;128:254-281.

Faseela K.V., Salikutty J. Molecular characterization of amaranthus landraces and assessment of interspecific relationships among Amaranthus spp. (L.) using RAPD markers. Indian J. Genet. 2007;67:12-17.

Fatinah A.A., Arumingtyas E.L., Mastuti R. Genetic diversity study among six genera of Amaranth Family found in Malang based on RAPD marker. J. Tropical Life Sci. 2012;2(3):81-86.

Goptsiy T.I. Amarant: biologija, vyroshhuvannja, perspektyvy vykorystannja, selekcija [Amaranth: biology, cultivation, prospects of use, and breeding]. Kharkiv, 1999. (in Ukrainian)

Labajova M., Senkova S., Ziarovska J., Razna K., Bezo M., Stefunova V., Zelenakova L. The Potential of ISSR markers in Amaranth gamma-radiance mutants genotypying. J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci. 2011;1(4):507-521.

Mallory M.A., Hall R.V., McNabb A.R., Pratt D.B., Jellen E.N., Maughan P.J. Development and characterization of microsatellite markers for the grain amaranths. Crop Sci. 2008;48:1098-1106.

Mandal N., Das P.K. Intra- and iterspecific genetic diversity in grain amaranthus using random amplified polymorphic DNA markers. Plant Tissue Cult. 2002;12:49-56.

Matveeva T.V., Pavlova O.A., Bogomaz D.I., Lutova L.A., Demkovich A.E. Molecular markers for plant species identification and phylogenetics. Ekologicheskaya genetika = Ecological Genetics. 2011;IX(1):32-43. (in Russian)

Maughan P.J., Smith S.M., Fairbanks D.J., Jellen E.N. Development, characterization, and linkage mapping of single nucleotide polymorphisms in the grain amaranths (Amaranthus sp.). Plant Gen. 2011;4:92-10.

Mujica A., Jacobsen S.E. The genetic resources of Andean grain amaranth (*Amaranthus caudatus* L., *A. cruentus* L. and *A. hypochondriacus* L.) in America. Plant Genet. Res. Newslett. 2011;133:41-44.

Murray M.G., Thompson W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Res. 1980;8(19):4321-4325.

Nei M., Li W.-H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. PNAS USA. 1979;76:5269-5273.

Park Y.-J., Nishikawa T. Rapid identification of Amaranthus caudatus and Amaranthus hypochondriacus by sequencing and PCR–RFLP analysis of two starch synthase genes. Genome. 2012;55:622-628.

Park Y.-J., Nishikawa T., Matsushima K., Minami M., Nemoto K. A rapid and reliable PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) marker for the identification of Amaranthus cruentus species. Breed. Sci. 2014;64:422-426. DOI 10.1270/jsbbs. 64.422.

Ranade S.A., Kumar A., Goswamt M., Farooqui N., Sane P.V. Genome analysis of Amaranth: determination of inter- and intra-species variation. J. Biosci. 1997;22(4):457-464.

Ray T., Roy S.C. Physical localization of highly nutritional protein coding *AmA1* gene in amaranths through molecular cytogenetic tools. Caryologia. 2008;61(3):216-224.

Ray T., Roy S.C. Genetic diversity of Amaranthus species from the Indo-Gangetik plains revealed by RAPD analysis leading to the development of ecotype-specific SCAR marker. J. Hered. 2009;100(3):338-347.

Razna K., Ziarovska J., Labajova M. Genome changes in mutant lines of *Amaranthus* as detected by microsatellite-directed PCR. J. Agricult. Biol. Sci. 2012;7(11):877-884.

Riggins C.W., Peng Y., Stewart C.N. Jr, Tranela P.J. Characterization of *de novo* transcriptome for waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*) using GS-FLX 454 pyrosequencing and its application for studies of herbicide target-site genes. Soc. Chem. Industr. 2010;66:1042-1052.

Sauer J.D. Grain amaranth. Ewolution of crop plants. London: Simmonds NW, Longman Group Ltd, 1976;4-7.

Sivolap Y.M. Ispol'zovanie PTsR-analiza v genetiko-selektsionnykh issledovaniyakh: Nauchno-metodicheskoe rukovodstvo [Guidelines for using PCR analysis in genetics and breeding]. Kyiv, Agrarna nauka Publ., 1998. (in Russian)

Stefunova I.V. Geneticka analyza laskavca (*Amaranthus* L.) DNA markermi: Autoref. diz. Nitra. 2008.

Stefunova V., Bezo M., Ziarovska J., Razna K. Detection of the genetic variability of Amaranthus by RAPD and ISSR markers. Pak. J. Bot. 2015;47(4):1293-1301.

Xu F., Sun M. Comparative analysis of phylogenetic relationships of grain amaranths and their wild relatives (*Amaranthus*; *Amaranthaceae*) using internal transcribed spacer, amplified fragment length polymorphism, and double-primer fluorescent intersimple sequence repeat markers. Mol. Phylogen. Evol. 2001;21(3):372-387.

Zheleznov A.V., Zheleznova N.B., Burmakina N.V., Yudina R.S. Amarant: nauchnye osnovy introduktsii [Amaranth: scientific foundations of introduction]. Novosibirsk: Geo Publ., 2009. (in Russian)

Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):198-206
DOI 10.18699/VJ17.237

Изменчивость морфометрических признаков хвои на клоновой плантации плюсовых деревьев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.)

Н.Н. Бессчетнова, В.П. Бессчетнов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия», Нижний Новгород, Россия

Формирование ассортимента плюсовых деревьев для лесосеменных плантаций остается наиболее сложной проблемой современной лесной селекции. Она связана с опасностью возникновения инбредной депрессии семенного потомства плюсовых деревьев, не обладающих выраженными механизмами защиты от самоопыления. Сосна обыкновенная относится к важнейшим в хозяйственном плане древесным видам. Разнообразные характеристики ее хвои – предмет многоплановых научных изысканий. Размер хвои признан косвенным показателем энергии роста сосны. Наши исследования были направлены на селекционную оценку плюсовых деревьев сосны обыкновенной по морфометрическим признакам хвои. Плюсовые деревья представлены своими клонами в составе лесосеменных плантаций первого порядка на территории Нижегородской области. При сборе исходного материала обеспечивалась элиминация дифференцирующего влияния факторов среды и времени. Несходство плюсовых деревьев по широкому перечню признаков проявлялось в неодинаковой степени. Поскольку неоднородность состава изучаемой лесосеменной плантации сформировалась на фоне выровненных экологических условий, возникли основания рассматривать ее как обусловленную преимущественно наследственными причинами. Это подтвердили результаты дисперсионного анализа. Установлено преобладающее влияние несходства между ортетами на проявление фенотипической неоднородности их потомства. Зафиксирован аналогичный эффект, связанный с различиями между раметами, который по своей величине сопоставим с остаточной дисперсией. Выраженная неоднородность состава и ее наследственная детерминированность создали условия для результативного проведения многомерных сравнений плюсовых деревьев. Факторный анализ сформировал из общего набора морфометрических признаков хвои комплексные независимые переменные. Они использованы в кластерном анализе наряду с исходными признаками. Кластерный анализ выявил в составе лесосеменной плантации плюсовые деревья, в наибольшей мере отличающиеся от других. В схемах скрещивания для достижения эффекта гетерозиса и исключения риска инбредной депрессии они могут комбинироваться со всеми остальными плюсовыми деревьями.

Ключевые слова: сосна обыкновенная; лесосеменные плантации; плюсовые деревья; клоны; хвоя; многомерный анализ.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:
Бессчетнова Н.Н., Бессчетнов В.П. Изменчивость морфометрических признаков хвои на клоновой плантации плюсовых деревьев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.). Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):198-206. DOI 10.18699/VJ17.237

HOW TO CITE THIS ARTICLE:
Besschetnova N.N., Besschetnov V.P. Variability of morphometrical characteristics of needles at a clonal plantation of plus trees of scots pine (*Pinus sylvestris* L.). Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(2):198-206. DOI 10.18699/VJ17.237

Received 14.03.2016
Accepted for publication 17.06.2016
© AUTHORS, 2017

e-mail: lesfak@bk.ru

Variability of morphometrical characteristics of needles at a clonal plantation of plus trees of scots pine (*Pinus sylvestris* L.)

N.N. Besschetnova, V.P. Besschetnov

Nizhny Novgorod State Agricultural Academy, Nizhny Novgorod, Russia

The formation of plus trees assortment for seed orchards is one of the most difficult problems of contemporary forest breeding. This problem is related to the risk of inbreeding depression of the seed progeny of plus trees, which do not have any defense mechanism against self-pollination. Economically, the Scots pine is one of the most important wood species. Diverse characteristics of its needles make a subject for multidisciplinary research. Needle size is accepted as an indirect indicator of growth pine energy. Our research was focused on selection valuation of Scots pine plus trees by morphometric features of needles. Plus trees are represented by their clones in first-order seed orchards in the Nizhny Novgorod region. When collecting the source material, the elimination of differentiating effects of environmental factors and time factors was ensured. The dissimilarity of plus trees at a wide range of signs was manifested to different degrees. Because the heterogeneity of the assortment composition of the seed orchard in question was formed against the background of the aligned environmental conditions, there was every reason to consider it as being caused largely by hereditary factors. It was confirmed by the results of ANOVA. The predominant influence of distinctions between ortets was established. The influence of distinctions between the ramets was revealed – that was comparable to the residual variance. Pronounced heterogeneity of the composition and its genetic determinism set up conditions for effective multivariate comparisons of plus trees. Factor analysis formed its integrated independent variables from a common set of morphological parameters of needles. They are used in cluster analysis along with the original signs. Cluster analysis revealed in the seed orchards plus trees that are to the greatest extent different from the others. They can be combined with all the other plus trees in cross-breeding schemes to achieve the heterosis effect and to eliminate the risk of inbreeding depression.

Key words: Scots pine; seed orchards; plus trees; clones; needles; multivariate analysis.

Селекционное совершенствование лесов с целью повышения их ресурсного потенциала включено в перечень приоритетов в развитии отечественного лесного хозяйства (Государственная программа…, 2014). Центральное место в проводимых в этой связи мероприятиях занимают постоянная лесосеменная база и ее ядро – лесосеменные плантации (Царев, 2001, 2013; Ефимов, 2010). При реализации программных вопросов вполне обоснована концентрация усилий на важнейших в хозяйственном отношении древесных видах. В их число входит сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.). Проблема формирования оптимального ассортимента плюсовых деревьев для лесосеменных плантаций остается одной из наиболее сложных в современной лесной селекции (Царев, Лаур, 2006; Foff, Foffová, 2008; Lindgren et al., 2008; Ефимов, 2010). Она требует глубокой и разносторонней оценки многочисленных клонов, входящих в состав объектов постоянной лесосеменной базы (Драгавцев, 1967, 1972, 1981; Рутковский, 2003; Ефимов, 2010; Драгавцев, Драгавцева, 2011). Обозначенная проблема во многом связана с опасностью возникновения инбредной депрессии семенного потомства плюсовых деревьев (Langner, Stern, 1955; Orr-Ewing, 1957; Franclin, 1969; Романовский, Хромова, 1992; Burdon, Russell, 1998; Исаков и др., 2000; Sorensen, 2001; Wu et al., 2002; El-Kassaby, Klapste, 2012). Это обусловлено тем, что хвойные не обладают выраженными механизмами защиты от самоопыления (Langner, Stern, 1955; Orr-Ewing, 1957; Sorensen et al., 1976; Исаков и др., 2000; Кузнецова, 2009; Машкина и др., 2009; Сурсо, 2009). Самоопыление у них происходит с частотой 10–20 %, а на лесосеменных плантациях (ЛСП) чаще, чем в естественных насаждениях, и признается основной причиной инбридинга (Исаков, 2000; Сурсо, 2009). Сложившаяся практика отбора плюсовых деревьев (Указания…, 2000) может быть усовершенствована посредством расширения перечня признаков, соответствующие значения которых используются в качестве селекционных критериев и маркеров (Мамаев, 1967; Ballian, Božič, 2004; Крутовский, 2006, 2014; Видякин, 2010, 2014; Lučić et al., 2012; Царев, 2013).

Разнообразные характеристики хвои представляют собой предмет многоплановых исследований (Васфилов, 2005; Salminen, Jalkanen, 2006; Sariyildiz, Anderson, 2006; Urbaniak et al., 2008; Androsiuk et al., 2011; Бессчетнова, Бессчетнов, 2014). Наиболее стабильны ее длина, ширина и их соотношение, а также ширина клеток эпидермиса (Мамаев, 1969, 1972; Boratyńska, Bobowicz, 2000; Klõšeiko, Tilk, 2008). Отмечен низкий уровень изменчивости линейных параметров хвои (Boratyńska, Bobowicz, 2000; Boratyńska, Hinca, 2003). Считают, что размер хвои является косвенным показателем энергии роста сосны (Бреусова и др., 1970; Луганская, 1976; Мольченко, 1982). Цель наших исследований – оценка изменчивости клонов плюсовых деревьев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) по характеристикам хвои при формировании ассортиментного состава объектов постоянной лесосеменной базы в условиях Среднего Поволжья.

Материалы и методы

Объектом исследований были плюсовые деревья, представленные своими клоновыми потомствами в составе лесосеменной плантации первого порядка № 2, расположенной в границах Семеновского лесничества на территории Нижегородской области. Изучали наследственную обусловленность дисперсии признаков плюсовых деревьев, имеющих хозяйственное, адаптационное и идентификационное значение. Организация работ предусматривала привлечение широко используемых схем полевых стационарных и лабораторных методов, а также общепринятых подходов к построению выборок (Никитин, Швиденко, 1978; Доспехов, 1985).

Элиминация дифференцирующего влияния факторов среды достигалась сравнением изучаемых объектов и образцов только в пределах одного опытного участка с общими лесорастительными условиями, одинаковой схемой размещения растений, едиными режимами содержания и выращивания, однотипным посадочным материалом (двухлетние привитые саженцы), использованным при его создании. Размещение рядов клонов на ЛСП, согласно нормативам создания объектов постоянной лесосеменной базы, рендомизировано. Устранение влияния фактора времени, вызывающего хронографическую (фенологическую и онтогенетическую) изменчивость анализируемых характеристик исследуемых растений, обеспечивали общими сроками заготовки их биологических образцов, одновременными измерениями, наблюдениями и учетами анализируемых показателей, сравнением между собой только одновозрастных деревьев либо их частей и органов. Чистоту состава рамет на ЛСП и корректность отнесения каждой из них к соответствующему ортету тестировали с применением маркерного фенотипического признака «угол прикрепления боковых ветвей к стволу». Его выбор определен полученными (Бессчетнова и др., 2004; Бессчетнова, 2011) сведениями о стабильности фенотипических проявлений данного признака у клонов одного плюсового дерева, больших различиях между ортетами и высокой доле ее генотипической обусловленности.

Обследован полный состав ЛСП – 20 клонов плюсовых деревьев. По каждому из них учтено 3–4 раметы; их общее количество 72. На каждой из них с периферии среднего яруса хорошо освещенного участка кроны из центральной части типичных побегов текущего года было заготовлено по 20 брахибластов, возраст хвои – один год. Анализировали непосредственно учитываемые и производные от них признаки: 1) длину первой свежесобранной хвоинки в пучке, 2) длину второй свежесобранной хвоинки в пучке, 3) среднюю длину хвоинок пучка, 4) массу пучка хвоинок в свежесобранном состоянии, 5) отношение массы свежесобранной хвои к ее суммарной длине, 6) длину первой воздушно-сухой хвоинки в пучке, 7) длину второй воздушно-сухой хвоинки в пучке, 8) среднюю длину воздушно-сухих хвоинок, 9) массу пучка хвоинок в воздушно-сухом состоянии, 10) отношение массы воздушно-сухой хвои к ее суммарной длине, 11) долю содержания воды относительно сырой массы, 12) долю содержания воды относительно сухой массы. К оценке результатов селекции привлечены кластерный и факторный анализы (Никитин, Швиденко, 1978). Они зарекомендовали себя как вполне результативные в лесоводственных исследованиях (Maltamo, Eerikäinen, 2001; Sironen et al., 2001;

Семихов и др., 2007; Temesgen et al., 2008; Koulelis, 2009; Androsiuk et al., 2011).

Результаты

Лесосеменная плантация № 2 представлена весьма разнородным по анализируемым характеристикам хвои ассортиментом плюсовых деревьев (рис. 1).

Их несходство по представленному перечню признаков проявлялось в неодинаковой степени, что также было зафиксировано диапазонами лимитов и коэффициентами вариации. Указанная неоднородность состава данной лесосеменной плантации сформировалась на фоне выровненных экологических условий, что дает основания рассматривать ее как обусловленную преимущественно наследственными причинами. Это подтвердили результаты однофакторного дисперсионного анализа (табл. 1).

Состав плюсовых деревьев на ЛСП № 2 обнаружил существенность различий по всем рассматриваемым характеристикам (см. табл. 1). Опытные критерии Фишера больше соответствующих минимально допустимых пределов на 5 и 1 % уровнях значимости: от 11.27 (признак 11) до 62.72 (признак 3). Эффективность действия различий между собственно плюсовыми деревьями, представленными группами своих клонов (организованный фактор), достаточно велика и при достоверности оценок в расчетах по алгоритму Плохинского составляет от 13.10 ± 1.16 (признак 11) до 45.63 ± 0.73 % (признак 3). В расчетах по алгоритму Снедекора величины вполне сопоставимы и даже несколько выше: от 12.52 ± 0.92 (признак 11) до 46.24 ± 0.72 % (признак 3). Это можно объяснить значительно большим представительством учетных растений (72 шт.) по сравнению с количеством анализируемых

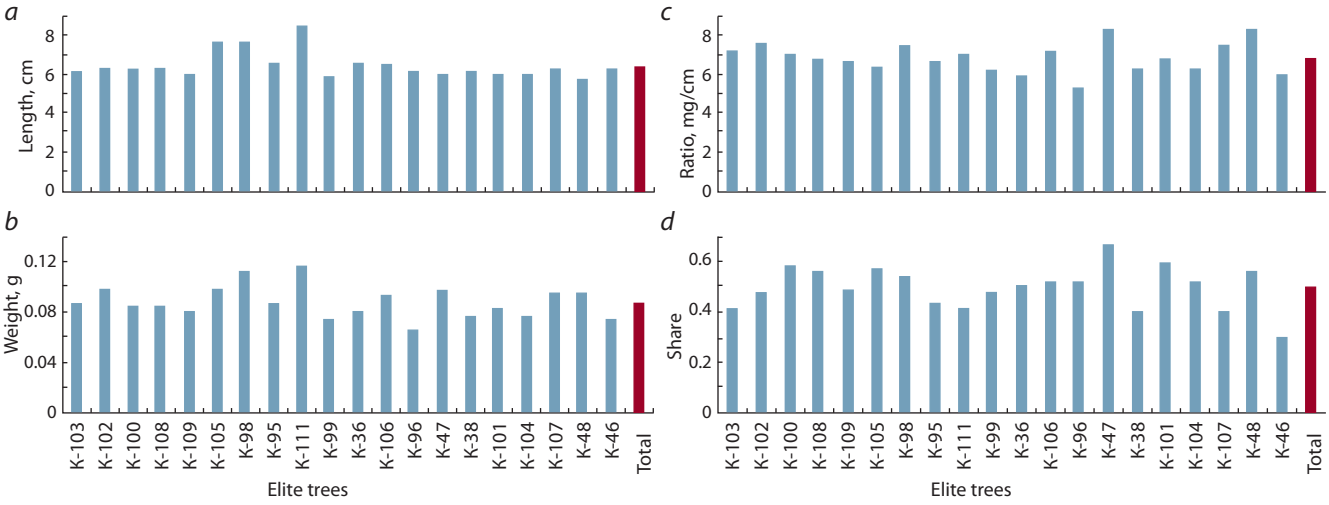


Fig. 1. Mean values of needle traits in various clones of elite trees: *a*, length; *b*, weight; *c*, linearly distributed weight; *d*, share of water with reference to dry weight.

Table 1. Significance of variations among elite trees

Trait	Fisher test, F_{exp}	The share of factor influence ($h^2 \pm s_{h^2}$), according to Snedecor		Difference criteria	
		h^2	$\pm s_{h^2}$	LCD_{05}	D_{05}
1	61.66	0.4581	0.0073	0.247	0.445
2	62.22	0.4604	0.0072	0.245	0.441
3	62.72	0.4624	0.0072	0.244	0.440
4	34.80	0.3202	0.0091	0.006	0.011
5	33.13	0.3093	0.0092	0.356	0.642
6	51.79	0.4145	0.0078	0.254	0.458
7	53.24	0.4213	0.0077	0.253	0.456
8	53.78	0.4238	0.0077	0.249	0.450
9	42.56	0.3668	0.0085	0.003	0.006
10	39.97	0.3520	0.0087	0.242	0.436
11	11.27	0.1252	0.0117	0.069	0.125
12	19.31	0.2033	0.0107	0.249	0.450

F_{exp}, experimental value of the Fisher criterion ($F_{05} = 1.58$; $F_{01} = 1.89$); h^2, the proportion of influence of the organized factor; $\pm s_{h^2}$, error of the share of influence of the organized factor; LSD_{05}, least significant difference at the 5 % level of significance; D_{05}, Tukey criterion at the 5 % significance level.

Table 2. The results of two-way nested analysis of variance of needle traits in elite plus trees

Trait	Source of variance	Fisher criterion		The share of factor influence ($h^2 \pm s_{h^2}$)			
				according to Plokhinskiy		according to Snedecor	
		F_{exp}	$F_{05/01}$	h^2	$\pm s_{h^2}$	h^2	$\pm s_{h^2}$
1	Clones	4.52	1.78/2.26	0.4520	0.0076	0.4203	0.2118
	Ramets	26.20	1.36/1.54	0.2734	0.0276	0.3232	0.0257
	Remainder	–	–	0.2745	0.7255	0.2565	0.7435
2	Clones	4.45	1.78/2.26	0.4543	0.0076	0.4215	0.2114
	Ramets	27.60	1.36/1.54	0.2794	0.0274	0.3302	0.0255
	Remainder	–	–	0.2663	0.7337	0.2483	0.7517
3	Clones	4.50	1.78/2.26	0.4563	0.0076	0.4236	0.2106
	Ramets	27.45	1.36/1.54	0.2776	0.0275	0.3282	0.0255
	Remainder	–	–	0.2661	0.7339	0.2482	0.7518
4	Clones	2.65	1.78/2.26	0.3177	0.0095	0.2901	0.2594
	Ramets	24.38	1.36/1.54	0.3281	0.0255	0.3826	0.0235
	Remainder	–	–	0.3542	0.6458	0.3273	0.6727
5	Clones	2.46	1.78/2.26	0.3071	0.0096	0.2792	0.2634
	Ramets	25.66	1.36/1.54	0.3421	0.0250	0.3980	0.0229
	Remainder	–	–	0.3508	0.6492	0.3228	0.6772
6	Clones	3.76	1.78/2.26	0.4093	0.0082	0.3777	0.2274
	Ramets	26.83	1.36/1.54	0.2983	0.0267	0.3508	0.0247
	Remainder	–	–	0.2924	0.7076	0.2716	0.7284
7	Clones	3.72	1.78/2.26	0.4160	0.0081	0.3829	0.2255
	Ramets	28.95	1.36/1.54	0.3060	0.0264	0.3597	0.0243
	Remainder	–	–	0.2780	0.7220	0.2574	0.7426
8	Clones	3.83	1.78/2.26	0.4185	0.0081	0.3860	0.2243
	Ramets	27.79	1.36/1.54	0.2987	0.0267	0.3515	0.0246
	Remainder	–	–	0.2828	0.7172	0.2624	0.7376
9	Clones	2.90	1.78/2.26	0.3628	0.0088	0.3301	0.2448
	Ramets	30.60	1.36/1.54	0.3426	0.0250	0.3998	0.0228
	Remainder	–	–	0.2945	0.7055	0.2701	0.7299
10	Clones	2.77	1.78/2.26	0.3485	0.0090	0.3168	0.2496
	Ramets	29.50	1.36/1.54	0.3444	0.0249	0.4015	0.0228
	Remainder	–	–	0.3071	0.6929	0.2817	0.7183
11	Clones	2.70	1.78/2.26	0.1310	0.0121	0.1218	0.3209
	Ramets	4.75	1.36/1.54	0.1328	0.0330	0.1385	0.0327
	Remainder	–	–	0.7362	0.2638	0.7397	0.2603
12	Clones	3.32	1.78/2.26	0.2053	0.0110	0.1946	0.2943
	Ramets	7.11	1.36/1.54	0.1691	0.0316	0.1885	0.0308
	Remainder	–	–	0.6256	0.3744	0.6169	0.3831

F_{exp}, experimental value of the Fisher criterion; $F_{05/01}$, tabular value of the Fisher criterion at the 1 and 5 % levels of significance; h^2, an indicator of the strength of influence of the organized factors; $\pm s_{h^2}$, error measure of the strength of the impact factor.

рамет (20 шт.) на фоне принципиально превосходящей численности первичных единиц выборки (1440 ед.) по каждому признаку. Критерии различий ($НСР_{05}$ и D_{05}) обозначают порог, при превышении которого фактическая разность значений признаков вегетативных потомств ортетов (см. рис. 1) признается существенной. Двухфакторный иерархический дисперсионный анализ позволил оценить результативность влияния каждого из организованных факторов на формирование фенотипических различий между клонами плюсовых деревьев (табл. 2).

В табл. 2 заметно достоверное и преобладающее влияние различий между клонами, которое по отдельным признакам в оценках по алгоритму Снедекора превысило 46 %. Влияние различий между раметами (до 40.15 %)

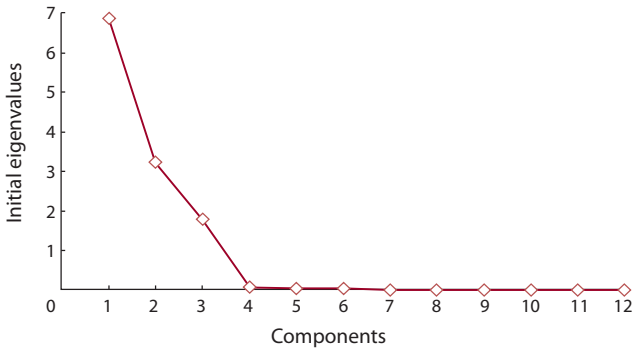


Fig. 2. Extraction of principal components in factor analysis.

связано с неоднородностью вегетативного потомства плюсового дерева. Причиной неравноценности прививок (такой метод клонирования использован при создании ЛСП) остается качество работ при их выполнении, как, впрочем, и индивидуальное физиологическое состояние и специфика взаимодействия подвоя с привоем. Кроме того, подвой семенного происхождения неоднороден в генетическом отношении. Все это может в значительной мере определять темпы и успешность их срастания, а, следовательно, последующее развитие. Остаточная дисперсия по своей величине сопоставима с эффектом, вызванным неоднородностью ремет, а ее наличие указывает на определенную зависимость рассматриваемых показателей от неучтенных в опыте факторов среды. В целом двухфакторный иерархический дисперсионный анализ подтвердил результаты, полученные по его однофакторной схеме.

Выраженная неоднородность состава исследуемой лесосеменной плантации (см. рис. 1) и ее наследственная обусловленность (см. табл. 1 и 2) создали основания для результативного проведения на ней многомерных сравнений плюсовых деревьев. Факторный анализ сформировал из общего набора признаков хвои комплексные независимые факторы (рис. 2, табл. 3).

Рис. 2 иллюстрирует убедительное выделение трех главных компонент в комплексе из 12 признаков хвои. Статистически незначимые факторы имеют начальные собственные значения, весьма близкие к 0. В то же время у главных компонент они заметно выше общепринятой критической отметки, равной 1. Общая доля дисперсии, приходящейся на главные компоненты (см. табл. 3), значительно больше допустимого минимума в 70 %. Данные табл. 3 свидетельствуют о логичности распределения признаков по главным компонентам. В первой представлены только признаки длины хвои в свежесобранном и воздушно-сухом состоянии. Оценки массы пучка хвои и ее отношения к соответствующей длине хвоинок входят в состав одной компоненты: для свежесобранной хвои – в третьей, для воздушно-сухой – во второй. Оценки доли воды относительно массы свежесобранной и воздушно-сухой хвои отнесены к одной компоненте – второй.

Сформированные в процессе факторного преобразования независимые переменные использованы в кластерном анализе, который был проведен также и по исходным признакам (табл. 4, рис. 3).

На дендрограмме, построенной по нормированным значениям 12 исходных признаков (см. рис. 3, *а*), виден наиболее крупный кластер (К-100, К-108, К-101, К-109, К-99, К-104, К-96, К-95, К-36, К-106). Рубежи формиро-

Table 3. The rotated component matrix of factor analysis

Indicators analyzed, traits of needles	Principal components		
	first	second	third
The length of the fresh needle in a fascicle			
first	0.996		
second	0.996		
Average length of fresh pine needles in a fascicle	0.996		
The mass of a fascicle of fresh pine needles			0.721
Fresh needle weight : length			0.993
The length of the air-dry needle in a fascicle			
first	0.995		
second	0.990		
The average length of air-dry pine needles in a fascicle	0.995		
The mass of an air-dry fascicle		0.810	
Dry needle weight : length		0.924	
The proportion of water relative to wet weight			
wet		–0.941	
dry		–0.927	
Initial eigenvalues of components	6.856	3.208	1.796
The share of the variance of components, %	57.13	26.74	14.97
Cumulative variance of components, %		98.836	

Table 4. Clustering of clones of elite trees

Agglomeration step			Coefficient		Emergence of the first cluster		Next stage
Stage	Clusters		Distance	Scale units			
	1	2			Cluster 1	Cluster 2	
On 12 initial traits							
1	3	4	0.244	0.12	0	0	4
2	5	10	0.566	0.27	0	0	3
3	5	17	1.457	0.69	2	0	10
4	3	16	1.555	0.74	1	0	10
5	1	18	2.182	1.04	0	0	6
6	1	2	2.274	1.08	5	0	13
7	8	11	2.953	1.40	0	0	9
8	15	20	3.785	1.80	0	0	13
9	8	12	4.572	2.17	7	0	14
10	3	5	4.608	2.19	4	3	11
11	3	13	6.821	3.24	10	0	14
12	6	7	7.458	3.54	0	0	16
13	1	15	8.377	3.97	6	8	17
14	3	8	9.717	4.61	11	9	17
15	14	19	12.063	5.72	0	0	18
16	6	9	13.897	6.59	12	0	19
17	1	3	15.567	7.39	13	14	18
18	1	14	22.698	10.77	17	15	19
19	1	6	52.691	25.00	18	16	0
On three principal components							
1	3	4	0.083	0.19	0	0	3
2	5	10	0.230	0.52	0	0	4
3	3	16	0.374	0.85	1	0	12
4	5	17	0.436	0.99	2	0	8
5	1	18	0.627	1.43	0	0	6
6	1	2	0.653	1.48	5	0	10
7	8	11	1.004	2.28	0	0	9
8	5	15	1.107	2.51	4	0	9
9	5	8	1.670	3.79	8	7	12
10	1	12	1.792	4.07	6	0	13
11	7	9	1.915	4.35	0	0	15
12	3	5	2.123	4.82	3	9	14
13	1	19	3.382	7.68	10	0	16
14	3	13	3.430	7.79	12	0	16
15	6	7	3.665	8.33	0	11	18
16	1	3	5.510	12.52	13	14	17
17	1	20	5.988	13.60	16	0	18
18	1	6	9.309	21.15	17	15	19
19	1	14	11.004	25.00	18	0	0

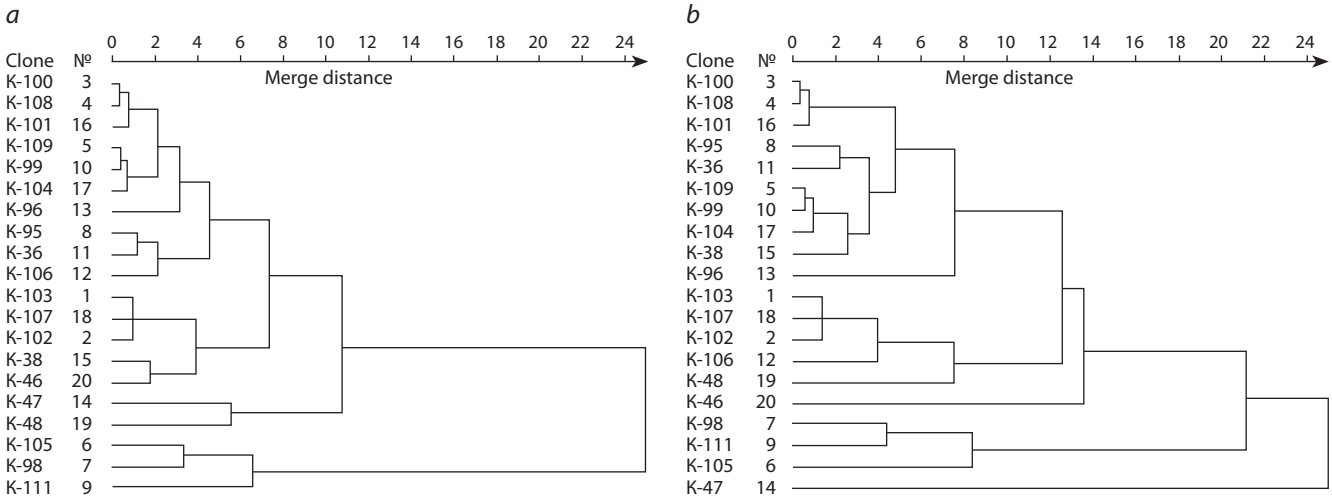


Fig. 3. Dendrograms of similarities between elite tree clones in (*a*) needle traits and (*b*) principal components.

вания (от 0.12 до 4.61 ед.) указывают на плотность его сложения. К нему последовательно примыкают меньшие по численности и отчетливо отделенные группы. При этом дистанции их присоединения намного больше рубежей формирования каждой из групп. Наиболее отличается от всех группа плюсовых деревьев К-105, К-98, К-111, сложившаяся в границах 3.54–6.59 масштабных единиц дистанции и присоединившаяся к основной группировке на расстоянии 25 ед.

Построение дендрограммы на основе трех главных компонент дало картину (см. рис. 3, *б*), весьма сходную с предыдущим рисунком (см. рис. 3, *а*). В ее структуре (см. рис. 3, *б*) удается обнаружить такие же или очень близкие по строению группы плюсовых деревьев, которые были отмечены на первой дендрограмме (см. рис. 3, *а*). В частности, группа К-100, К-108, К-101 представлена на первой и второй дендрограммах как входящая в состав одинаковых кластеров. Плюсовые деревья К-105, К-98, К-111, образовавшие наиболее оригинальную группу на первой дендрограмме, сохраняют свои позиции и на второй. При этом каждая из дендрограмм обладает своей индивидуальностью. В ассортименте лесосеменной плантации № 2 выявлены плюсовые деревья, наиболее отличающиеся от других: К-98, К-111, К-105, К-47 (см. рис. 3, *б*). Найденные доказательства наследственной природы фенотипических различий между клонами плюсовых деревьев по анализируемым признакам (см. табл. 1 и 2) позволяют рассматривать их группировку в кластеры как обусловленную спецификой генотипов плюсовых деревьев, клонированных на исследуемой плантации.

Обсуждение

Клоны плюсовых деревьев, представленные в составе лесосеменных плантаций, дифференцированы по основным количественным характеристикам хвои, имеющим важное биологическое значение. Различия между ними существенны и в высокой степени обусловлены генотипически. Это подтверждено результатами дисперсионного анализа. Фенотипическая неоднородность плюсовых деревьев по изученным признакам хвои в определенной мере связана с экологическими условиями. По отдельным признакам на долю их влияния приходится до 73.62 % общей дисперсии.

Установленные в ходе кластерного анализа величины статистической близости клонов плюсовых деревьев позволяют дать вероятностную оценку степени их генотипического сходства. Принадлежность клонов к одному кластеру указывает на реальную возможность их генотипического сходства. Если же клоны относятся к разным кластерам, их генотипическое сходство потенциально невелико. Чем заметнее статистическое расстояние между кластерами и чем большее число генетически маркерных признаков вовлечено в исследование, тем выше уровень наследственно обусловленных различий между составляющими их плюсовыми деревьями. Это, в свою очередь, выступает показателем минимального риска возникновения инбредной депрессии и проявления ее негативных последствий у семенного потомства, полученного на ЛСП. Данное обстоятельство, несмотря на ограниченное число изученных признаков, необходимо учитывать при формировании ассортимента плюсовых деревьев вновь создаваемых объектов постоянной лесосеменной базы. При установке ограничений на введение в состав лесосеменных плантаций растений с признаками наследственной близости они должны представлять наиболее отдаленные друг от друга кластеры, многомерные расстояния между которыми максимальны. В определенной мере строгость такого назначения определяется наличием достаточного количества отобранных плюсовых деревьев, по которым получен необходимый объем сведений. Если отобрано небольшое количество плюсовых деревьев, ограничения на их введение в состав одной лесосеменной плантации могут быть снижены. В такой ситуации рекомендации по включению в состав ассортимента того или иного плюсового дерева будут направлены на критерии, согласно которым плюсовые деревья должны входить в состав разных кластеров, притом что кластеры не обязательно должны быть наиболее отдаленными друг от друга. Однако в любом случае включение в состав плантации плюсовых

деревьев из одного кластера нежелательно, поскольку иначе риск возникновения инбредной депрессии семенного потомства будет наивысшим. В решении идентификационных и классификационных задач при селекционной инвентаризации объектов постоянной лесосеменной базы и единого генетико-селекционного комплекса в качестве маркерных признаков целесообразно использовать линейные параметры и массу хвои, а также отношение массы хвои к ее длине и показатели потери воды при высушивании. Их выбор основан на устойчивости проявления и выраженной наследственной обусловленности.

Acknowledgments

The authors are grateful to the staff of the Semenov Specialized Seed Farm, Nizhniy Novgorod.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Androsiuk P., Kaczmarek Z., Urbaniak L. The morphological traits of needles as markers of geographical differentiation in European *Pinus sylvestris* populations. Dendrobiology. 2011;65:3-16.

Ballian D., Božič G. The control of morphologic identification of the clones from the seed orchard of Scots pine "Koziji grm" by using the isoenzyme markers. Radovi Šumarskog Fakulteta Univerziteta u Sarajevu. 2004;34(1):47-56.

Besschetnova N.N. Sosna obyknovennaya (*Pinus sylvestris* L.) [Scots pine (*Pinus sylvestris* L.)] Selektsionnyy potentsial plyusovykh derev'ev [The breeding potential of elite trees]. Saarbrücken: Lap Lambert Academic Publishing GmbH& co. KG. Publ., 2011. (in Russian)

Besschetnova N.N., Besschestnov V.P. Sosna obyknovennaya (*Pinus sylvestris* L.) [Scots pine (*Pinus sylvestris* L.)] Morfometriya i fiziologiya khvoi plyusovykh derev'ev [Morphometry and physiology of needles of elite trees]. Nizhniy Novgorod, 2014. (in Russian)

Besschetnova N.N., Gorelov N.I., Kozlov N.A. Identifikatsionnoe znachenie ugla krepleniya vetvey pri izuchenii vegetativnogo potomstva plyusovykh derev'ev sosny obyknovennoy [The identification significance of the angle of attachment of the branches in the study of vegetative progeny of elite Scots pine trees]. Lesovodstvo Nizhegorodskoi oblasti na rubezhe vekov: Sb. nauch. tr. po mater. nauch.-pract. conf. [Proceedings of the applied research conference "Forest management of Nizhniy Novgorod oblast at the turn of the century"]. Nizhniy Novgorod, 2004;28-43. (in Russian)

Boratyńska K., Bobowicz M.A. Variability of *Pinus uncinata* Ramond ex DC. as expressed in needle traits. Dendrobiology. 2000;45:7-16.

Boratyńska K., Hinca M. Morphological characteristic of *Pinus sylvestris* L. in the southernmost, isolated locality in the Sierra de Baza (S. Spain) as expressed in the needle characters. Dendrobiology. 2003; 50:03-09.

Breusova I.A., Mosin V.I., Shulga V.V., Sidorova N.S. Voprosy semenovodstva sosny v Kazakhstane [Pine seed production in Kazakhstan]. Lesa Urala i khozyaystvo v nikh: Sb. nauch. tr. [Uralian forests and their management: Collection of works]. Sverdlovsk, 1970;5:270-274. (in Russian)

Burdon R.D., Russell J.H. Inbreeding depression in selfing experiments: statistical issues. Forest Genetics. 1998;5(3):179-189.

Dospekhov B.A. Metodika polevogo opyta [Technique of field experiments]. Moscow, 1985. (in Russian)

Dragavtsev V.A. K otsenke nasleduemosti selektsionnykh priznakov drevesnykh rasteniy s pomoshch'yu pokazateley s minimal'noy nasledstvennost'yu [On the estimation of the heritability of commercial traits in woody plants with minimally inherited indicators]. Soveshchanie po lesnoi genetike, selektsii i semenovodstvu. Tez. dokl. po mater. soveshch: g. Petrozavodsk, 12–15 dekabrya 1967 g. [Abstracts from the workshop on forest genetics, breeding, and seed industry. Petrozavodsk, December 12–15, 1967]. Petrozavodsk, 1967;48-49. (in Russian)

Dragavtsev V.A. Metody analiza vnutrividovoy izmenchivosti v lesnykh populyatsiyakh i prognoza effektivnosti analiticheskoy lesnoy selektsii [Methods of analysis of intraspecific variation in forest populations and forecasting the effectiveness of analytical forest breeding]. Doklady uchenykh – uchastnikov mezhdunarodnogo simpoziuma po selektsii, genetike i lesnomu semenovodstvu khvoynykh porod. g. Novosibirsk, 19–25 iunia 1972 [Proc. Int. Symp. on conifer breeding, genetics, and seed industry. Novosibirsk, June 19–25, 1972]. Pushkino, 1972;60-70. (in Russian)

Dragavtsev V.A. Sovremennye sistemy selektsii rasteniy [Modern system of plant breeding]. Razrabotka osnov selektsii drevesnyh porod. Tez. dokl. sovesch. Riga, 22–25 sentiabria 1981 [Abstracts from the workshop on the elaboration of principles of wood species breeding. Riga, September 22–25, 1981]. Riga. 1981;1:70-73. (in Russian)

Dragavtsev V.A., Dragavtseva E.V. Ekologo-geneticheskaya organizatsiya godichnykh prirostov monopodial'nykh khvoynykh drevesnykh rasteniy [Ecogenetic organization of annual growth in monopodial woody conifers]. Sokhranenie lesnykh geneticheskikh resursov Sibiri. Mater. 3-go mezhdunar. soveshch., posvyashch. Mezhdunarodnomu godu lesov: 23–29 avgusta 2011 g., Krasnoyarsk, Russia [Proc. III Int. Workshop "Preservation of forest genetic resources in Siberia" dedicated to the International Year of Forests. Krasnoyarsk, August 23–29, 2011]. Krasnoyarsk, 2011;43-44. (in Russian)

Efimov Yu.P. Semennye plantatsii v selektsii i semenovodstve sosny obyknovennoy [Seed orchards in Scots pine breeding and seed production]. Voronezh: Istoki Publ., 2010. (in Russian)

El-Kassaby Y.A., Klapste J. Tree improvement: crossroads between conventional and free-pedigree Breeding. Proc. of Conf. on Seed Orchards and Breeding Theory. Antalya, 21–25 May 2012. Isparta: Forestry Faculty of Suleyman Demirel University, 2012;57-58.

Foff V., Foffová E. PROSAD a tool for projecting and managing data about seed orchards. Seed orchards: Proc. from a Conference at Umeå, Sweden, 26–28 September, 2007. Uppsala, Sweden: SLU. Publikationstjänst, 2008;60-69.

Franclin E.C. Inbreeding depression in metrical traits of loblolly pine (*Pinus taeda* L.) as a result of self-pollination. North Carolina State University. Sch. Forest Resources. Tech. Rep. 1969;40:1-19.

Isakov Yu.N., Kuznetsova N.F., Mashkina O.S. The diversity in the level of self-fertility and genotype dependence in Scots pine. Lesovedenie = Forest Science. 2000;2:44-50. (in Russian)

Klõšeiko J., Tilk M. Drought tolerance of Scots pine in diverse growth conditions on a dune estimated on the basis of carbohydrates and chlorophyll fluorescence in needles. Forestry Studies. 2008;49:25-36. DOI 10.2478/v10132-011-0060-3.

Koulelis P.P. Cluster analysis in primary roundwood production of 25 countries of European Union. Ann. Forest Res. 2009;52(1):163-168.

Krutovskiy K.V. From population genetics to population genomics of forest tree species: an integrated population-genomic approach. Genetika = Genetics (Moscow). 2006;42(10):1304-1318. (in Russian)

Krutovskiy K.V. Prospects for the use of genomic research in forestry. Sibirskiy Lesnoi Journal = Siberian Forest Journal. 2014;4:11-15. (in Russian)

Kuznetsova N.F. The influence of climatic conditions on the expression of the trait of self-fertility in Scots pine. Ecologiya = Ecology (Yekaterinburg), 2009;3:390-395. (in Russian)

Langner W., Stern K. Versuchstechnische probleme bei der Anlage von Klonplantage. Zeitschrift Forstgenetik Forstpflanzenzüchtung. 1955;4:81-88.

Lindgren D., Karlsson B., Andersson B., Prescher F. Swedish seed orchards for Scots pine and Norway spruce. Seed orchards: Proc. from a Conference at Umeå, Sweden, 26–28 September, 2007. Uppsala, Sweden: SLU. Publikationstjänst, 2008;142-154.

Lučić A., Isaev V., Rakonjac L., Lavadinović V., Popović V., Ćirković-Mitrović T., Brašanac-Bosanac L. Interpopulation genetic variability of Scots pine (*Pinus silvestris* L.) in Serbia by application of biochemical markers. Proc. Conf. on Forestry Science and Practice for the Purpose of Sustainable Development of Forestry (20 years of the faculty of forestry in Banja Luka), 1–4 November 2012. Banja Luka: University of Banja Luka. 2012;677-685.

Luganskaya V.D. Vzaimosvyaz' razmerov khvoi s rostom po vysote u derev'ev sosny v molodnyakakh sredney i yuzhnoy podzony taygi Urala [The relationship between needle size and height growth in pine trees in young stands of Uralian middle and southern taiga]. Lesa Urala i hoziaistvo v nigh: Sb. tr. [Uralian forests and their management: Collection of works]. Sverdlovsk, 1976;9:94-97. (in Russian)

Maltamo M., Eerikäinen K. The Most similar neighbour reference in the yield prediction of *Pinus kesiya* stands in Zambia. Silva Fennica. 2001;35(4):437-451. DOI 10.14214/sf.579.

Mamaev S.A. Vnutrividovaya sistematika drevesnykh rasteniy i problemy selektsii [Intraspecific systematics of woody plants and the problem of their breeding]. Soveschanie po lesnoi genetike, selektsii i semenovodstvu. Tez. dokl. po mater. sovesch.: g. Petrozavodsk, 12–15 dekabria 1967 g. [Abstracts from the workshop on forest genetics, breeding, and seed industry. Petrozavodsk, December 12–15, 1967]. Petrozavodsk, 1967;47-48. (in Russian)

Mamaev S.A. Individual'naya izmenchivost' v soderzhanii khlorofilla v khvoe sosny obyknovennoy. II. Amplituda izmenchivosti. Zakonomernosti formoobrazovaniya i differentsiatsii vida u drevesnykh rasteniy [Individual variability in chlorophyll content in the needles of Scots pine: II. The amplitude of variability. Regularities in the differentiation of woody species]. Trudy Instituta ekologii rastenyi i zhivotnyh UF AN SSSR [Proceedings of the Institute of Plant and Animal Ecology]. Sverdlovsk, 1969;60:90-95. (in Russian)

Mamaev S.A. Formy vnutrividovoy izmenchivosti drevesnykh rasteniy (na primere semeystva Pinaceae na Urale) [Forms of intraspecific variation in woody plants (by the example of the family Pinaceae in the Urals)]. Moscow, 1972. (in Russian)

Mashkina O.S., Kuznetsova N.F., Isakov Yu.N., Butorina A.K. Self-fertility in pine as one of the mechanisms of resistance to chemical mutagens. Ecologiya = Ecology (Yekaterinburg). 2009;6:423-428. (in Russian)

Mol'chenko L.L. K voprosu ranney diagnostiki genotipa plyusovykh derev'ev [On early genotyping of elite trees]. Chetvertyy s'ezd Vsesoyuznogo obshchestva genetikov i selektsionerov im. N.I. Vavilova. Tez. dokl. Kishinev, 1–5 Fevralia 1982 [Abstracts from the IV Congress of the Vavilov All-Union Society for Geneticists and Breeders. Chișinău, February 1–5, 1982). Chișinău, Shtiintsa Publ., 1982;3:61. (in Russian)

Nikitin K.E., Shvidenko A.Z. Metody i tekhnika obrabotki lesovodstvennoy informatsii [Methods and Technique of the Processing of Forestry Information]. Moscow, 1978. (in Russian)

Orr-Ewing A. A cytological study of the effects of self-pollination on Pseudotsuga menziesii (Mirb.) Fanco. Silvae Gen. 1957;6:147-161.

Romanovskiy M.G., Khromova L.V. Formation of Scots pine seeds by self-fertilization. Lesovedenie = Forest Science. 1992;5:3-9. (in Russian)

Rutkowskiy I.V. Sostoyanie lesnogo semenovodstva i perspektivy ego razvitiya [The state of forest seed production and its development prospects]. Pyatyy Vserossiyskiy s'ezd lesovodov. Moskva, 25–27 fevralya 2003 g. [Proceedings of the 5th Congress of Foresters. Moscow, February 25–27, 2003]. Moscow, 2003;190-194. (in Russian)

Salminen H., Jalkanen R. Modelling variation of needle density of Scots pine at high latitudes. Silva Fennica. 2006;40(2):183-194. DOI 10.14214/sf.337.

Sariyildiz T., Anderson J.M. Intra-specific variation in cell wall constituents of needle age classes of *Pinus sylvestris* in relation to soil fertility status in Southwest England. Silva Fennica. 2006;40(1):15-26. DOI 10.14214/sf.349.

Semikhov V.F., Gvozdeva E.V., Besschetnov V.P., Arefieva L.P., Novozhilova O.A., Grinash M.N. Amino acid composition of seeds and systematics of the family Pinaceae. Botanicheskiy Zhurnal = Botanical Journal. 2007;92(12):118-132. (in Russian)

Sironen S., Kangas A., Maltamo M., Kangas J. Estimating individual tree growth with the k-nearest neighbour and k-most similar neighbour methods. Silva Fennica. 2001;35(4):453-467. DOI 10.14214/sf.580.

Sorensen F.C. Effect of population outcrossing rate on inbreeding depression in *Pinus contorta* var. murrayana seedlings. Scand. J. Forest Res. 2001;16(5):391-403. DOI 10.1080/02827580152632784.

Sorensen F.C., Franklin J.F., Woollard R. Self-pollination effects on seed and seedling traits in noble fir. Forest Sci. 1976;22(2):155-159.

State program of the Russian Federation "Forestry development" for 2013–2020. Available at http://www.nbchr.ru/PDF/042_oos.pdf (in Russian)

Surso M.V. Genetic polymorphism of conifer populations in Northern Europe. Izvestia Samarskogo nauch. tsentra RAN = Proceedings of the Samara Research Center of the RAS. 2009;11(1(3)):389-393. (in Russian)

Temesgen H., Barrett T.M., Latta G. Estimating cavity tree abundance using Nearest neighbor imputation methods for western Oregon and Washington forests. Silva Fennica. 2008;42(3):337-354. DOI 10.14214/sf.241.

Tsarev A.P. Programmy lesnoy selektsii (v Rossii i za rubezhom) [Forest breeding programmes in Russia and abroad]. Moscow, 2013. (in Russian)

Tsarev A.P., Laur N.V. Problems of elite selection. Lesnoi vestnik = Herald of Forestry. 2006;5:118-123. (in Russian)

Ukazaniya po lesnomu semenovodstvu v Rossiyskoy Federatsii [Guidance on forest seed industry in the Russian Federation]. Moscow, 2000. (in Russian)

Urbaniak L., Chudzińska E., Fąferek S. Differentiation of *Pinus sylvestris* populations of the Tatra Mts and the Tuchola forest expressed in the needle anatomical traits. Dendrobiology. 2008;60:35-43.

Vasfilov S.P. Variability of dry mass and water content in the needles of *Pinus sylvestris* (Pinaceae). Botanicheskiy Zhurnal = Botanical Journal. 2005;90(8):1235-1247. (in Russian)

Vidyakin A.I. The efficiency of breeding of woody plants. Hvoinye borealnoi zony = Conifers of the Boreal Area. 2010;27(1-2):18-24. (in Russian)

Vidyakin A.I. Application of the results of phenogeographical studies in the forestry of Russia. Sibirskiy Lesnoi Journal = Siberian Journal of Forest Science. 2014;4:29-34. (in Russian)

Wu H.X., Matheson A.C., Abarquez A. Inbreeding in *Pinus radiata*. IV: the effect of inbreeding on wood density. Ann. Forest Sci. 2002; 59(5/6):557-562. DOI 10.1051/forest:2002041.

Создание триплоидных сортов яблони – приоритетное направление в селекции

Е.Н. Седов, Г.А. Седышева, М.А. Макаркина ✉, З.М. Серова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур» (ВНИИСПК), Орловская область, Орловский район, Россия

В статье большое внимание отводится предварительной селекции (пребридингу) при создании триплоидных сортов яблони. Дана краткая характеристика доноров диплоидных гамет, которые выделены среди имеющихся тетраплоидных сортов и форм или созданы селекционным путем, особенно в тех случаях, когда в природе нет сортов и форм (доноров диплоидных гамет) с необходимыми для селекционера признаками. Создана селекционным путем форма 30-47-88 (Либерти × 13-6-106), являющаяся комплексным донором диплоидных гамет и иммунитета к парше (ген V_f). С 1970 по 2015 г. при селекции яблони на полиплоидном уровне осуществлено 455 комбинаций скрещиваний, искусственно опылено 660 тыс. цветков, получено 124.7 тыс. гибридных семян, выращено 47.9 тыс. однолетних сеянцев, из которых после многократных браковок в селекционные сады перенесено 13.2 тыс. сеянцев. Впервые в России от интервалентных скрещиваний создано и уже районировано 10 сортов (Августа, Александр Бойко, Бежин луг, Вавиловское, Дарёна, Масловское, Орловский партизан, Осиповское, Патриот, Яблочный Спас). Установлено, что сорта, полученные во ВНИИСПК, характеризуются, как правило, урожайностью, лучшей товарностью плодов, большей устойчивостью к парше и более высокой самоплодностью. Получены сорта, совмещающие триплоидию и иммунитет к парше. Ведется многообещающая работа по получению сортов, объединяющих в своих геномах триплоидию, иммунитет к парше и колонновидность (ген *Co*). Дана краткая характеристика созданных за последнее время от интервалентных скрещиваний триплоидных иммунных к парше сортов Вавиловское и Яблочный Спас, а также трех триплоидных сортов, полученных от скрещивания диплоидных сортов. Отмечено, что триплоидные сорта яблони селекции ВНИИСПК по комплексу хозяйственных признаков не уступают зарубежным сортам, а по адаптивности значительно превосходят их и при внедрении в широкое производство могут способствовать решению импортозамещения плодовой продукции в стране.

Ключевые слова: яблоня; селекция; сорта; полиплоидия; иммунитет к парше; импортозамещение.

The development of triploid apple cultivars is a priority in breeding

E.N. Sedov, G.A. Sedysheva, M.A. Makarkina ✉, Z.M. Serova

All-Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding (VNIISPK), Orel region, Russia

Great attention is paid to preliminary breeding (prebreeding) when developing triploid apple cultivars. Brief characteristics of diploid gamete donors are given. It should be noted that sometimes donors of diploid gametes with necessary important traits not only have to be selected from among existing tetraploid cultivars, but also developed by a breeding way, especially in the case when in nature there are no cultivars and genotypes (donors of diploid gametes) with given traits. The authors of the paper developed form 30-47-88 (Liberty × 13-6-106) by a breeding way. 30-47-88 is a complex donor of diploid gametes and scab immunity (V_f) at once. During 1970–2015, the following work was done in apple breeding using polyploidy: 455 crossing combinations were performed; 660000 flowers were artificially pollinated; 124700 hybrid seeds were obtained and 47900 one-year-old seedlings were grown, from which after multiple rejections 13200 seedlings were planted in breeding orchards. For the first time in Russia ten apple cultivars (Avgusta, Aleksandr Boiko, Bezhin Lug, Vavilovskoye, Dariona, Maslovskoye, Orlovsky Partizan, Osipovskoye, Patriot and Yablochny Spas) have been developed from intervalence crossings and regionalized. It has been stated that apple cultivars developed at the VNIISPK are characterized, as a rule, by high productivity, better fruit marketability, greater resistance to scab and higher autogamy. Apple cultivars combining triploidy and scab immunity have been developed. Promising breeding is being performed for apple cultivars combining triploidy, scab immunity and columnar habit (*Co*). Brief characteristics of triploid and scab immune cultivars Vavilovskoye and Yablochny Spas developed from the intervalence crossings as well as three triploid cultivars obtained from crossings of diploid cultivars are given. It is noted that triploid apple cultivars developed at the VNIISPK are inferior to none of foreign cultivars in a complex of commercial traits and they significantly excel foreign cultivars in adaptability. Our apple cultivars may contribute to import substitution of fruit production in the country.

Key words: apple; breeding; cultivars; polyploidy; scab immunity; import substitution.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:
Седов Е.Н., Седышева Г.А., Макаркина М.А., Серова З.М. Создание триплоидных сортов яблони – приоритетное направление в селекции. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):207-213. DOI 10.18699/VJ17.238

HOW TO CITE THIS ARTICLE:
Sedov E.N., Sedysheva G.A., Makarkina M.A., Serova Z.M. The development of triploid apple cultivars is a priority in breeding. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(2):207-213. DOI 10.18699/VJ17.238

Received 20.06.2016
Accepted for publication 29.07.2016
© AUTHORS, 2017

✉ e-mail: nauka@vniispk.ru; makarkina.m@mail.ru

Впервые о большой перспективе селекции яблони на полиплоидном уровне заявили шведские исследователи. Считалось, что развитие этого направления необходимо рассматривать как новую эру в селекции яблони (Einset, 1947; Dermen, 1951). К сожалению, в дальнейшем эти работы не получили должного развития.

Для яблони триплоидия – наименьший уровень плоидности, который дает наибольший эффект (Бавтуто, 1977). Целый ряд триплоидных сортов яблони, полученных спонтанно, в недалеком прошлом имел широкое промышленное значение в мире: Болдуин, Боскопская красавица, Графенштейнское, Джонаголд, Зеленка Род Айлендская, Ренет Кулона, Старк и др. В Англии одним из ведущих коммерческих сортов яблони признан триплоидный сорт Брамлис Сидлинг.

Очень важная особенность триплоидов – отсутствие у них резко выраженной периодичности плодоношения, что связано с ограниченным количеством плодов, образующихся при ненормальном редукционном делении в половых клетках. По этой причине даже в наиболее благоприятные годы у триплоидов завязывается умеренный урожай, не препятствующий закладке генеративных почек под урожай будущего года (Туз, 1970; Дутова, 1985).

Как правило, триплоидные сорта имеют более крупные товарные плоды в сравнении с диплоидными. Ряд авторов отмечает повышенную устойчивость триплоидных сортов к парше (Лизнев, 1985; Пономаренко, 1985).

Цель настоящих исследований – получение адаптивных продуктивных триплоидных сортов яблони, основанное на отборе, изучении и включении в селекцию доноров диплоидных гамет (тетраплоидных сортов и форм), с последующим выделением генотипов, отличающихся более регулярным плодоношением, высокой товарностью плодов, повышенной устойчивостью к парше и самоплодностью.

Новизна работы заключается в том, что биологические, цитоэмбриологические исследования позволили впервые в России и в мире получить от интервалентных скрещиваний 18 принципиально новых триплоидных сортов, из которых 10 включены в Государственный реестр селекционных достижений и 8 проходят государственное испытание.

Материалы и методы

Объектами исследований послужили гибридные сеянцы (около 50 тыс. шт.) в селекционных школках и селекционных садах, а также сорта и доноры диплоидных гамет в садах первичного и производственного испытания сортов. Наблюдения, учеты и обработку экспериментального материала проводили общепринятыми методами (Программа и методика селекции…, 1995; Программа и методика сортоизучения…, 1999; Комплексная программа по селекции..., 2003).

Для подсчета хромосом фиксировали вегетативные почки на стадии «зеленый конус», предварительно тщательно отпрепарировав их от кроющих чешуй; фиксатор – уксусный алкоголь (3:1) (3 части этилового спирта + 1 часть ледяной уксусной кислоты). Временные давленые препараты готовили пропионо-лакмоидным методом (Каптарь, 1967). Мейоз изучали на временных препаратах ацето-гематоксилиновым методом (Топильская, 1975), формирование зародышевого мешка – на постоянных препаратах (Паушева, 1980).

Оценку биохимического состава плодов проводили согласно методическому руководству ВИР им. Н.И. Вавилова «Методы биохимического исследования растений» (1987); определение сахаров – методом Бертрана; определение титруемых кислот (общей кислотности) – методом титрования экстракта раствором 0.1 н. щелочи в присутствии индикатора; определение аскорбиновой кислоты – методом титрования щавелевокислых вытяжек краской Тильманса (2.6-дихлорфенолиндофенолом); определение Р-активных веществ – колориметрическим методом с использованием фотоэлектроколориметра марки КФК-2.

Результаты и обсуждение

Пребридинг в селекции яблони на полиплоидном уровне. Во Всероссийском НИИ селекции плодовых культур селекция яблони на полиплоидном уровне была начата в 1970 г., а в 1976 г. во ВНИИСПК создана цитоэмбриологическая лаборатория (Седов и др., 2008). Работа селекционеров и цитоэмбриологов проходит в тесном контакте, цитологический контроль плоидности исходных форм и гибридных сеянцев, цитоэмбриологическое изучение исходных форм с целью определения их пригодности для гетероплоидных скрещиваний – неотъемлемый этап селекционной работы (табл. 1).

Таким образом, в скрещиваниях диплоид × тетраплоид в среднем по всем комбинациям скрещивания формируется 31.82 диплоидных, 68.00 триплоидных и 0.17 % тетраплоидных растений. В скрещиваниях типа тетраплоид × диплоид диплоиды составляют 22.43, триплоиды – 54.00 и тетраплоидные сеянцы – 23.44 %. Значительный процент тетраплоидных растений в этом типе скрещиваний можно объяснить высокой самоплодностью отдельных тетраплоидных форм, используемых в качестве материнского компонента (табл. 2).

Проведенные подробный цитоэмбриологический анализ мейоза при микроспорогенезе и анализ жизнеспособности пыльцы у полиплоидных форм яблони свидетельствуют о том, что диплоидно-тетраплоидная химера первого типа Антоновка плоская (2-4-4-4*x*), несмотря на более низкую жизнеспособность пыльцы по сравнению с ее диплоидным аналогом Антоновкой обыкновенной, формирует достаточное количество полноценной диплоидной пыльцы и, следовательно, может быть использована как донор диплоидных гамет в селекции на полиплоидном уровне.

Мекинтош тетраплоидный (4*x*) – гомогенная тетраплоидная форма, в условиях Орловской области формирует слабожизнеспособную пыльцу и как донор диплоидных гамет может быть использован в ограниченном объеме.

Папировка тетраплоидная (2-4-4-4*x*) при использовании в гетероплоидных скрещиваниях в качестве опылителя в гибридном потомстве дает в среднем более 77.9 % триплоидных сеянцев, что свидетельствует о ее пригодности в качестве донора диплоидных гамет.

Уэлси тетраплоидный (2-4-4-4*x*). На основании сравнительного цитоэмбриологического и морфологического

Table 1. Ploidy of hybrid seedlings from crossing of accessions with different chromosome sets

Type of crossing	Number of seedlings examined				
	Total	2*x*	3*x*	4*x*	Aneuploids
2*x* × 4*x*	14358	4568/31.82	9764/68.00	24/0.17	2/0.01
4*x* × 2*x*	1574	353/22.43	850/54.00	369/23.44	2/0.13

Table 2. Characterization of some donors of diploid gametes

Cultivar or hybrid	Maturation season	Fruit weight, g	Fruit appearance score	Fruit taste score
Cultivars				
Antonovka Ploskaya (2-4-4-4*x*)	Early winter	200	4.3	3.6
McIntosh tetraploid (4*x*)	Winter	130	4.5	4.3
Papirovka tetraploid (2-4-4-4*x*)	Early summer	120	4.2	4.0
Wealthy tetraploid (2-4-4-4*x*)	Winter	192	4.5	4.3
Hybrid seedlings				
13-6-106 (Suvorovetz – open pollination) (4*x*)	Winter	230	4.3	4.2
25-35-121 (Wealthy tetraploid × Papirovka tetraploid) (4*x*)	Late summer	125	4.4	4.2
25-35-144 (Wealthy tetraploid × Papirovka tetraploid) (4*x*)	Autumn	155	4.3	4.0
25-37-35 (Wealthy tetraploid – open pollination) (4*x*)	Winter	100	4.0	4.2
25-37-45 (Orlovskaya Girlyanda × Wealthy tetraploid) (4*x*)	Winter	147	4.3	4.2
30-47-88 [Liberty × 13-6-106 (Suvorovets seedling)] (4*x*)	Winter	180	4.3	4.3

исследований развития пыльцы эту диплоидно-тетраплоидную химеру первого типа следует использовать в селекции на полиплоидном уровне.

Гибридная форма 13-6-106 (сеянец сорта Суворовец) (4*x*) представляет собой гомогенный тетраплоид. В среднем по всем семьям от гетероплоидных скрещиваний с этой формой выход триплоидных растений в гибридном потомстве составляет более 80 %. Тетраплоидная форма 13-6-106 вполне пригодна в качестве донора диплоидных гамет. Хорошие доноры диплоидных гамет – сеянцы 25-35-121, 25-35-144, а также 25-37-45. Особый интерес представляет новая гибридная форма 30-47-88 (Либерти × 13-6-106) – донор диплоидных гамет и иммунитета к парше (ген V_f). Установлено, что мейоз у этой формы завершается формированием до 50 % нормальной пыльцы. Начало ее создания относится к 1970 г., когда были собраны семена диплоидного сорта Суворовец от свободного опыления, из них выращено 1957 сеянцев. Один из них, 13-6-106, оказался тетраплоидным и был отобран в качестве донора диплоидных гамет. В 1994 г. этот сеянец был использован в качестве отцовского родителя в скрещивании с сортом Либерти (ген V_f). Из полученных (31) однолетних сеянцев был отобран тетраплоидный, иммунный к парше (ген V_f) сеянец 30-47-88, который является комплексным донором диплоидных гамет и иммунитета к парше. С его участием получены триплоидные, колонновидные иммунные к парше сеянцы, не известные до сих пор в селекционной практике.

Цитоэмбриологические исследования, проведенные Г.А. Седышевой и Н.Г. Горбачевой, показали, что ценный донор диплоидных гамет, форму 30-47-88 [Либерти × 13-6-106 (сеянец Суворовца) (4*x*)], обладающую иммунитетом к парше (ген V_f), можно использовать в качестве не только отцовского, но и материнского родителя. Однако при опылении некастрированных цветков диплоидным сортом из семян от такого скрещивания получено 94.1 % сеянцев с тетраплоидным набором хромосом и только 5.9 % – триплоидных. Это можно объяснить высокой самоплодностью тетраплоидной формы, что и было подтверждено в специальных опытах. В связи с этим при необходимости использовать тетраплоидную форму 30-47-88 в качестве материнского компонента для получения триплоидного потомства следует проводить предварительную кастрацию цветков. Так как тетраплоидная форма 30-47-88 обладает иммунитетом к парше (ген V_f) и имеет высокожизнеспособную пыльцу, она относится к ценным комплексным донорам селекционно-значимых признаков и рекомендуется для широкого использования в селекции на полиплоидном уровне.

Общие итоги работы по селекции яблони на полиплоидном уровне. За весь период осуществлены скрещивания с полиплоидными формами 4*x* × 4*x*, 4*x* × 3*x*, 4*x* × 2*x*, 3*x* × 4*x*, 3*x* × 3*x*, 3*x* × 2*x*, 2*x* × 4*x*, 2*x* × 3*x*. Следует отметить, что скрещивания с анортоплоидными формами (4*x* × 3*x*, 3*x* × 4*x*, 3*x* × 3*x*, 3*x* × 2*x*, 2*x* × 3*x*) не имеют селекционной ценности. Гетероплоидные скрещивания ортоплоидных форм типа диплоид × тетраплоид, тетраплоид × диплоид считаются основными для создания гибридного фонда, обеспечивающего необходимый объем для практической селекции с целью получения триплоидных сортов.

Table 3. Comparison of triploid and diploid cultivars in weight, biochemical composition and taste

Cultivar	Mean fruit weight, g	Fruit composition averaged over several years				Sugar : acid index	Fruit taste, score
		total sugar, %	titratable acids, %	P-active substances, mg/100 g	ascorbic acid, mg/100 g		
Triploid cultivars of VNIISP breeding							
Avgusta, Aleksandr Boiko, Bezhin Lug, Blagodat, Vavilovskoye, Dariona, Zhilinskoye, Maslovskoye, Ministr Kiselyov, Nizkorosloye, Orlovski Partizan, Osipovskoye, Pamyat Semakinu, Patriot, Rodnichok, Rozhdestvenskoye, Spasskoye, Turgenevskoye, Yubilar, Yablochnyy Spas	175 ± 7	10.8 ± 0.3	0.61 ± 0.03	387 ± 16	9.0 ± 0.9	18.9 ± 1.4	4.3 ± 0.02
Best widespread diploid cultivars							
Papirovka, Melba, Antonovka Obyknovennaya, Severny Sinap	129 ± 4	9.2 ± 0.3	0.76 ± 0.1	281 ± 55	13.7 ± 0.9	12.6 ± 1.5	4.3 ± 0.1

В этих скрещиваниях отмечен довольно высокий выход однолетних сеянцев в процентах к опыленным цветкам: $4x \times 2x$ – 4.3 %, $2x \times 4x$ – 7.9 %.

С 1970 по 2015 г. выполнена большая работа по селекции на полиплоидном уровне: осуществлено 455 комбинаций скрещиваний, опылено 660 тыс. цветков, получено 124.7 тыс. сеянцев, выращено 47.9 тыс. однолетних сеянцев, пересажено в селекционный сад 13.2 тыс. сеянцев, районировано 10 триплоидных сортов от интервалентных скрещиваний и 5 триплоидных сортов от скрещиваний 2 диплоидных сортов, 8 триплоидных сортов, полученных от интервалентных скрещиваний, проходят государственное испытание.

Самоплодность полиплоидных сортов и форм. Почти все сорта яблони самобесплодны, и для нормального плодоношения требуются сорта-опылители, что создает определенные организационные трудности.

Нами проведен анализ данных самоплодности и перекрестной плодовитости у триплоидных сортов. Выявлено, что в ряде случаев триплоидные сорта при самоопылении давали больший выход плодов по сравнению с перекрестным опылением. Так, по сорту Рождественское при естественном самоопылении в среднем за два года (2009, 2010) было получено 12.6 и при искусственном самоопылении 7.2 % плодов, тогда как в среднем по пяти комбинациям перекрестного опыления – 9.5 %; у сорта Августа, соответственно, 4.4, 0.6 и 2.8 % и у сорта Орловский партизан – 5.2, 6.9 и 8.5 %.

Выход нормально развитых семян на один плод при самоопылении по сорту Рождественское составил 2.2 и 1.4 шт., а при перекрестном опылении – 1.8 шт.

Результаты специальных опытов по изучению самоплодности тетраплоидных форм показали, что формы 30-47-88 [Либерти × 13-6-106 (Сеянец Суворовца)], 25-37-45 (Орловская гирлянда × Уэлси тетраплоидный) и 25-35-121 (Уэлси тетраплоидный × Папировка тетраплоидная) – самоплодные, так как процент завязываемости плодов при искусственном самоопылении у них был близок к контролю (свободное опыление) или даже выше, чем в контроле.

Оценка биохимического состава плодов триплоидных сортов. Проведенный биохимический анализ плодов показал, что в среднем триплоидные сорта достоверно превосходят диплоидные по массе плодов (табл. 3). Среди триплоидных сортов массу плодов более 200 г имеют Масловское, Патриот, Яблочный Спас, тогда как наиболее крупноплодный диплоидный сорт Антоновка обыкновенная характеризуется массой плодов в 140–160 г. Триплоидные сорта превосходят диплоидные по содержанию в плодах сахаров (10.8 и 9.2 %) и Р-активных веществ (387 и 281 мг/100 г), но уступают по содержанию аскорбиновой кислоты (9.0 и 13.7 мг/100 г), хотя сорт Масловское характеризуется повышенным содержанием аскорбиновой кислоты (17.5 мг/100 г). По вкусовым качествам в целом триплоидные сорта не отличаются от диплоидных, большинство из них обладают десертным вкусом плодов (Благодать, Осиповское, Министр Киселев и др.).

Устойчивость триплоидных сеянцев к парше. Как показали наши наблюдения и учеты, отмечается определенная тенденция к повышению устойчивости к парше у триплоидных сеянцев по сравнению с диплоидными одного и того же генетического происхождения. Только в 2 семьях из 15 (в скрещиваниях Мелба × Папировка тетраплоидная и Редфри × Папировка тетраплоидная) триплоидные сеянцы сильнее поражались паршой, чем диплоидные. У остальных 13 семей средний балл поражения паршой при искусственном заражении у триплоидных сеянцев был на 0.1–1.0 балла ниже, чем у диплоидных из той же комбинации скрещивания (Седов и др., 2008).

Многолетнее изучение урожайности у лучших диплоидных и триплоидных сортов яблони селекции ВНИИСПК убедительно показало, что триплоидные сорта по этому важному показателю не уступают диплоидным. По массе и внешнему виду плодов триплоидные сорта достоверно превосходят диплоидные.

Инновационные приемы, открывающие новые перспективы в создании высококачественных сортов яблони. Большой ценностью обладают сорта яблони, совмещающие триплоидный набор хромосом ($3x$) и иммунитет к парше (ген V_f) (Седов и др., 2015). Такие сорта уже созданы, и часть их районирована (Александр Бойко, Вавиловское, Масловское, Рождественское, Юбиляр и

Table 4. Output of seedlings that combine two or three traits

Family number	Family name	Number of seedlings examined	Percentage of seedlings combining	
			triploidy (3*x*) + columnar habit (*Co*)	triploidy (3*x*) + columnar habit (*Co*) + scab immunity (V_f)
6223	Poezia (*Co*) × 30-47-88 (4*x*) [Liberty (V_f) × 13-6-106 (Suvorovetz –open pollination)]	202	22.3	4.0
6224	Priokskoye (*Co*) × 30-47-88 (4*x*) [Liberty (V_f) × 13-6-106 (Suvorovetz –open pollination)]	86	33.7	4.6
6225	Girlyanda (*Co* + V_f) × 25-37-45 (4*x*) (Orlovskaya Girlyanda × Wealthy tetraploid)	103	59.2	6.8
6226	29-35-123 (*Co* + V_f) [Arbat × 28-15-38 (814 – open pollination)] × 25-37-45 (Orlovskaya Girlyanda × Wealthy tetraploid)	44	54.5	13.6
Total		435	36.6	5.7

Table 5. Characterization of seedlings combining scab immunity (V_f), triploidy (3*x*), and the columnar habit (*Co*) (2015)

No.	Seedling height, cm	Trunk thickness, mm	Number of lateral branches	Compactness degree shoot thickness : internode length
Poezia (*Co*) × 30-47-88 (4*x* + V_f) [Liberty × 13-6-106 (Suvorovetz – open pollination)]				
190	122	15	0	1.2
191	89	11	0	1.5
201	186	20	4	1.4
219	142	18	0	1.0
295	138	20	2	1.1
360	132	16	0	0.8
376	136	14	0	1.1
377	63	10	0	1.1
Girlyanda (*Co* + V_f) × 25-37-45 (4*x*) (Orlovskaya Girlyanda × Wealthy tetraploid)				
535	92	14	0	1.2
538	92	14	0	1.2
554	135	17	0	0.8
567	102	13	1	1.0
600	68	15	0	0.8
606	105	14	0	1.2
636	112	15	0	1.0

Яблочный Спас), работа в этом направлении продолжается. Еще больший интерес представляет получение сортов, содержащих в своем геноме триплоидный набор хромосом (3*x*) + иммунитет к парше (ген V_f) + колонновидность (ген *Co*). С участием доноров диплоидных гамет (сеянцев 30-47-88 и 25-37-45) получено гибридное потомство четырех гибридных семей (435 сеянцев) и выделено 25 отборных по морфологическим признакам сеянцев, включающих три признака – триплоидию (3*x*), колонновидность (ген *Co*) и иммунитет к парше (ген V_f), и 159 сеянцев, совмещающих два признака – триплоидию (3*x*) и колонновидность (ген *Co*). Гибридизация проведена в 2010 г., посев семян – в 2011 г. (табл. 4), некоторые из них в 2015 г. заложили цветковые почки, в 2016 г. проведена их предварительная оценка по качеству плодов.

Были проведены замеры пятилетних сеянцев, совмещающих в геноме колонновидность, иммунитет к парше и триплоидию, и рассчитана степень компактности (отношение толщины побега к длине междоузлия) (табл. 5).

Краткая хозяйственно-биологическая характеристика лучших районированных триплоидных сортов яблони селекции ВНИИСПК

Сорта, полученные от разнохромосомных скрещиваний

Вавиловское [18-53-22 (Скрыжапель × OR18T13) × Уэлси тетраплоидный]. Триплоидный, иммунный к парше, урожайный зимний сорт. В 2015 г. включен в Государ-

ственный реестр. Авторы сорта: Е.Н. Седов, З.М. Серова, Г.А. Седышева, В.В. Жданов.

Плоды выше средней массы (170 г), приплюснутые, шаровидные, широкоребристые, скошенные. Покровная окраска занимает примерно половину поверхности плода в виде размытых полос буровато-красного цвета во время съема и полосатая красная в момент потребительской зрелости (рис. 1).

Мякоть плодов зеленоватая, плотная, мелкозернистая, очень сочная, кисло-сладкая, со слабым ароматом. Привлекательность плодов оценивается на 4.6 балла, вкус плодов – на 4.3 балла. Химический состав плодов: сумма сахаров – 13.0 %, титруемые кислоты – 0.67 %, аскорбиновая кислота – 5.1 мг/100 г, Р-активные вещества – 137 мг/100 г. Съемная зрелость плодов наступает в условиях Орловской области 10–20 сентября. Потребительский период продолжается с конца сентября до начала марта. Сорт с высокой урожайностью (26 т/га).

Достоинства сорта: иммунность к парше, высокие товарные и потребительские качества плодов.

Яблочный Спас (Редфри × Папировка тетраплоидная). Летний триплоидный, иммунный к парше сорт. В 2004 г. сорт включен в Государственный реестр. Авторы сорта: Е.Н. Седов, З.М. Серова, В.В. Жданов, Г.А. Седышева, Л.И. Дутова, Т.В. Рагулина.

Плоды крупные (210 г), средней одномерности, округло-конические, поверхность сильно ребристая. Покровная окраска занимает меньшую часть поверхности плода в виде полос малинового цвета (рис. 2).

Мякоть плодов зеленоватая, средней плотности, мелкозернистая, сочная. Внешний вид плодов оценивается на 4.4 балла, вкус – на 4.3 балла. Химический состав плодов: сумма сахаров – 10.6 %, титруемые кислоты – 0.7 %, аскорбиновая кислота – 9.4 мг/100 г, Р-активные вещества – 402 мг/100 г. Съемная зрелость плодов наступает в Орловской области на несколько дней позднее Папировки. Потребительский период плодов длится до конца сентября.

Сорт скороплодный и урожайный. Молодые (7–8-летние деревья) приносили по 40–50 кг плодов.

Достоинства сорта: иммунитет к парше, скороплодность, высокая товарность плодов. Представляет большой интерес для садов личных подсобных хозяйств.

Районированы также четыре триплоидных сорта яблони селекции ВНИИСПК, полученные от диплоидных родителей. Ниже дана хозяйственно-биологическая характеристика трех из них.

Память Семакину [Уэлси × 11-24-28 (сеянец Голден Грайма)]. Триплоидный сорт с плодами зимнего срока созревания. Авторы сорта: Е.Н. Седов, З.М. Серова, Н.Г. Красова, Г.А. Седышева. В Государственном реестре с 2001 г.

Плоды крупные (210 г), одномерные, широкоребристые, скошенные. Покровная окраска занимает большую часть поверхности плода в виде красных полос по светло-красному фону (рис. 3). Мякоть зеленоватая, плотная, колющаяся, нежная, мелкозернистая, сочная, с кисло-сладким вкусом. Плоды характеризуются привлекательным внешним видом (4.6 балла) и приятным вкусом (4.2–4.3 балла). Химический состав плодов: сумма сахаров – 9.4 %, титруемые кислоты – 0.77 %, аскорбиновая кислота – 7.8 мг/100 г, Р-активные вещества – 501 мг/100 г. Съем плодов в условиях Орловской области проводят в середине сентября, плоды могут сохраняться в холодильнике до середины февраля.

Достоинства сорта: скороплодность, высокая регулярная урожайность, товарность плодов, устойчивость к парше.

Недостатки сорта: сильнорослость деревьев.

Рождественское (Уэлси × ВМ41497). Иммунный к парше, триплоидный сорт с плодами зимнего созревания. Авторы сорта: Е.Н. Седов, З.М. Серова, В.В. Жданов, Е.А. Долматов. В Государственный реестр включен в 2001 г.

Плоды средней массы (150 г), средней одномерности, с заметными крупными долями. Покровная окраска на большей части поверхности плода в виде красного размытого румянца и крапин вишневого цвета (рис. 4). Мякоть плодов белая, кремоватая, плотная, колющаяся, нежная, очень сочная, кисло-сладкого десертного вкуса со слабым ароматом. Внешний вид и вкус плодов оцениваются на 4.4 балла. В условиях Украины плоды достигают массы 160–200 г и получают оценку на дегустациях 8.0 балла (по 10-балльной шкале). Химический состав плодов: сумма сахаров – 10.0 %, титруемые кислоты – 0.58 %, аскорбиновая кислота – 4.1 мг/100 г, Р-активные вещества – 366 мг/100 г. Съемная зрелость в условиях Орловской области наступает 12–17 сентября. Потребительский период продолжается с 10 октября до конца января. Сорт скороплодный и урожайный.

Достоинства сорта: иммунность к парше, скороплодность, высокие урожайность, товарные и вкусовые качества плодов.

Сорт широко распространяется в любительских и промышленных садах.

Юбиляр (814 – свободное опыление). Триплоидный, иммунный к парше сорт с позднелетним созреванием плодов, в 2009 г. включен в Государственный реестр. Авторы сорта: Е.Н. Седов, З.М. Серова, В.В. Жданов, Г.А. Седышева.

Плоды средней массы (130 г), ширококонические. Поверхность плодов гладкая, слабо ребристая. Покровная окраска занимает меньшую часть плода в виде штрихов и крапин малинового цвета (рис. 5). Мякоть плодов кремоватая, средней плотности, нежная, мелкозернистая, сочная, кисло-сладкая. Внешний вид плодов оценивается на 4.4 балла, вкус – на 4.2–4.3 балла. Химический состав плодов: сумма сахаров – 9.4 %, титруемые кислоты – 0.86 %, аскорбиновая кислота – 11.5 мг/100 г, Р-активные вещества – 388 мг/100 г. Съемная зрелость в условиях г. Орёл наступает 25 августа–5 сентября. Потребительский период продолжается до конца сентября. Сорт урожайный и регулярно плодоносящий. В Волгоградской области сорт характеризуется ежегодной и очень высокой урожайностью, может заменить такие распространенные сорта, как Папировка, Беркутовское, Квинти, Жигулевское (Гавришев, Ананьин, 2009). В Республике Беларусь сорт Юбиляр обладает высокой урожайностью плодов и рентабельностью (349 %). Сорт включен в Государственный реестр Республики Беларусь для промышленных и приусадебных садов.

Достоинства сорта: иммунитет к парше, регулярная урожайность, высокие товарные и потребительские качества плодов позднелетнего созревания.

Fig. 1. Vavilovskoye [18-53-22 (Skryzhapel × × OR 18T13) × Wealthy tetraploid].

Fig. 2. Yablochny Spas (Redfree × Papirovka tetraploid).

Fig. 3. Pamyat Semakinu [Wealthy × 11-24-28 (s. Golden Graim)].

Fig. 4. Rozhdestvenskoye (Wealthy × BM41497).

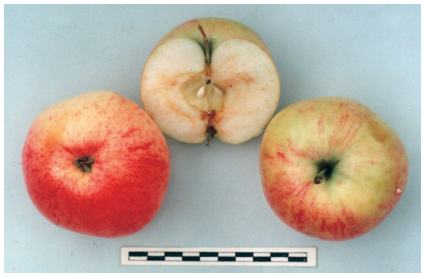


Fig. 5. Yubilar (814 – open pollination).

Недостатки сорта: поражается в средней степени мучнистой росой.

Краткое описание триплоидных сортов Августа, Александр Бойко, Бежин луг, Дарёна, Масловское, Орловский партизан, Осиповское, Патриот дано в работе (Седов и др., 2013).

Во ВНИИСПК сделан крупный задел в селекционной работе с яблоней благодаря использованию инновационных приемов. Это дает возможность получать принципиально новые высококонкурентные сорта с комплексом необходимых хозяйственных признаков, не уступающие зарубежным сортам по урожайности, технологическим и потребительским качествам плодов, существенно превосходящие их по адаптивности и способствующие решению проблемы импортозамещения плодовой продукции.

Acknowledgments

This work was supported by the Russian Science Foundation, project 14-16-00127.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Bavtuto G.A. Novye metody v selektsii plodovo-yagodnykh kultur [New methods in fruit and berry breeding]. Minsk, Vysshaya Shkola Publ., 1977. (in Russian)

Dermen H. Tetraploid and adventitious shoots from a diant sport McIntosh apple. J. Hered. 1951;42:144-149.

Dutova L.I. Tsitologicheskaya i anatomo-morfologicheskaya kharakteristika sortov yabloni raznogo urovnya ploidnosti [Cytological, anatomical and morphological characteristics of apple cultivars with different ploidy levels]. Selektsiya yabloni na uluchshenie kachestva plodov [Apple breeding for fruit quality improvement]. Orel, 1985;202-206. (in Russian)

Einset J. Apple breeding enters a new era. J. Einset. Fm. Res. N.Y. 1947;13(2):5.

Ermakov A.I. (Ed.). Metody biokhimicheskogo issledovaniya rasteniy [Methods of biochemical study of plants]. Leningrad, Agropromizdat Publ., 1987. (in Russian)

Gavrishev N.N., Anan'in N.V. Nizkoroslye sady dlia zdorovia cheloveka [Low-growing orchards for human health]. Volgograd, 2009. (in Russian)

Kaptar' S.G. A faster propionic–lacmoid method of the preparation and staining of temporary mounts for counting chromosomes in plants. Tsitologiya i genetika = Cytology and Genetics. 1967;1(4):87-90. (in Russian)

Kompleksnaya programma po selektsii semechkovykh kul'tur v Rossii na 2001–2020 gg. [The integrated program on pip crop breeding in Russia for 2001–2020]. Postanovlenie mezhdunar. nauch.-metod. konf. "Osnovnye napravleniya i metody selektsii semechkovykh kul'tur" [The resolution of the International Scientific and Methodical Conference "Principal trends and methods of pip crop breeding"]. Orel: VNIISPK Publ., 2003. (in Russian)

Liznev V.N. Polyploidy in apple breeding. Plodoovoshnoye Khozyaistvo = Horticulture. 1985;11:21-23. (in Russian)

Pausheva Z.P. Praktikum po tsitologii rasteniy [Tutorial on plant cytology]. Moscow, Kolos Publ., 1980. (in Russian)

Ponomarenko V.V. Poliploidiya vidov roda *Malus* Mill. [Polyploidy of *Malus* Mill. species]. Selektsiya yabloni na uluchshenie kachestva plodov [Apple breeding for fruit quality improvement]. Orel, 1985;163-168.

Sedov E.N. (Ed.). Programma i metodika selektsii plodovykh, yagodnykh i orekhoplodnykh kul'tur [Program and methods of fruit, berry, and nut breeding]. Orel, VNIISPK Publ., 1995. (in Russian)

Sedov E.N., Ogoltzova T.P. (Eds.). Programma i metodika sortoizucheniya plodovykh, yagodnykh i orekhoplodnykh kul'tur [Program and methods of fruit, berry and nut variety investigation]. Orel, VNIISPK Publ., 1999. (in Russian)

Sedov E.N., Sedysheva G.A., Makarkina M.A., Levgerova N.S., Serov Z.M., Korneeva S.A., Gorbacheva N.G., Salina E.S., Yanchuk T.V., Pikunova A.V., Ozherel'eva Z.E. Innovatsii v izmenenii genoma yabloni [Innovations in apple genome modification]. Novye perspektivy v selektsii [New prospects in breeding]. Orel: VNIISPK Publ., 2015. (in Russian)

Sedov E.N., Sedysheva G.A., Serova Z.M., Gorbacheva N.G., Melnik S.A. Breeding assessment of heteroploid crosses in the development of triploid apple varieties. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2013;17(3):499-508. (in Russian)

Sedov E.N., Sedysheva G.A., Serova Z.M. Selektsiya yabloni na poliploidnom urovne [Apple breeding at the ploidy level]. Orel, VNIISPK Publ., 2008. (in Russian)

Topilskaya L.A. Study of somatic and meiotic currant chromosomes on acetohematoxylin slides. Byul. TzGL im. I.V. Michurina = Bulletin of the Michurin Central Genetic Laboratory. 1975;22:58-61. (in Russian)

Tuz A.S., Lozitskiy A.Ya. Polyploid apple and pear cultivars. Genetika = Genetics (Moscow). 1970;VI(9):41-50. (in Russian)

Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):214-221
DOI 10.18699/VJ17.239

Реализация генетического потенциала морозостойкости у гибридов яблони разной плоидности

Н.Г. Красова ✉, З.Е. Ожерельева, А.М. Галашева

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур» (ВНИИСПК), Орловская область, Орловский район, Россия

Представлены результаты изучения устойчивости к неблагоприятным зимним условиям новых селекционных форм яблони, полученных во ВНИИСПК, по приоритетным направлениям селекции яблони. Цель работы – оценка генотипов яблони, созданных при совмещении в генотипе иммунитета к парше с тройным набором хромосом (ген *RVi6*+3x), по зимостойкости. Изучение зимостойкости проводили полевым и лабораторным методами моделирования повреждающих факторов с использованием морозильной камеры «ESPEC» PSL-2 KPN. Установлено, что к началу декабря генотипы приобретали хорошую закалку и проявили устойчивость жизненно важных тканей к раннезимним морозам до –30 °С (I компонент морозостойкости). Выявлены генотипы, которые критические температуры –38 и –40 °С, а также –42 °С при искусственном промораживании переносили с повреждением жизненно важных тканей на уровне Антоновки обыкновенной (компонент II). Моделирование трехдневной искусственной оттепели (2 °С) с последующим снижением температуры до –30 °С показало, что у всех изученных форм повреждения коры, камбия и древесины носили обратимый характер и не превышали 2.0 балла, а у иммунных триплоидных формы 31-2-130 и ЭЛС 31-36-149 не превышали 1.2 балла. Изучение зимостойкости новых селекционных форм позволило выявить наиболее зимостойкие и перспективные генотипы: иммунные к парше триплоидные формы 31-2-15, 31-2-115, 31-2-130 (Афродита × 13-6-106) и 31-36-149 [Веньяминовское × 25-35-144 (Уэлси тетраплоидный × Папировка тетраплоидная)], а также иммунные к парше диплоиды 31-35-58 (Юбилей Москвы × Краса Свердловска) и 31-15-126 [23-16-96 (сеянец 814 – свободное опыление) × Гулливер]. Эти генотипы проявили устойчивость жизненно важных тканей к раннезимним морозам, морозам в середине зимы до –40 °С на уровне Антоновки обыкновенной, а также морозам после оттепелей и сохранили способность восстанавливать устойчивость при повторной закалке после оттепелей.

Ключевые слова: селекция; яблоня; отборные сеянцы; компоненты морозостойкости; моделирование повреждающих факторов; устойчивость.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:
Красова Н.Г., Ожерельева З.Е., Галашева А.М. Реализация генетического потенциала морозостойкости у гибридов яблони разной плоидности. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):214-221. DOI 10.18699/VJ17.239

HOW TO CITE THIS ARTICLE:
Krasova N.G., Ozherelieva Z.E., Galasheva A.M. Realization of the genetic potential of frost hardiness in apple hybrids of different ploidy. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(2):214-221. DOI 10.18699/VJ17.239

Received 30.05.2016
Accepted for publication 26.07.2016
© AUTHORS, 2017

✉ e-mail: nikrass2109@yandex.ru

Realization of the genetic potential of frost hardiness in apple hybrids of different ploidy

N.G. Krasova ✉, Z.E. Ozherelieva, A.M. Galasheva

All-Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding, Orel region, Russia

The results of a study of resistance to unfavorable winter conditions of new selection seedlings of apple developed in the Institute as part of priority directions of apple breeding are presented. The goal of the work is to estimate winter hardiness of apple genotypes developed by combining scab resistance in a triploid genotype (*RVi6*+3x). Methods of a winter hardiness study in the field and laboratory conditions were used by modelling damage factors in a "ESPEC" PSL-2 KPN deep-freezer . It was determined that by early December the genotypes gained a good hardening and displayed the resistance of vitally important tissues to early winter frosts up to 30 °C (frost resistance component I). The genotypes were revealed that under artificial freezing bore critical temperatures –38 and –40 °C as well as –42 °C with damages of vitally important tissues at the level of Antonovka Obyknovennaya (component II). The modelling of a three-day artificial thaw (+2 °C) with the following temperature lowering to –30 °C showed that in all studied apple seedlings the damages of bark, cambium and wood were reversible and did not exceed 2.0 points while in immune, triploid forms 31-2-130 and ELS 31-36-149, the damages did not exceed 1.2 points. The winter hardiness study of selection apple seedlings allowed revealing the most winter hardy and promising genotypes: scab resistant and triploid forms 31-2-15, 31-2-115, 31-2-130 (Afrodita × 13-6-106) and 31-36-149 [Veniaminovskoye × 25-35-144 (Wealthy tetraploid × Papirovka tetraploid)] as well as scab resistant diploids 32-35-58 (Yubiley Moskvy × Krasa Sverdlovska) and 31-15-126 [23-16-96 (seedling 814 – open pollination) × Gulliver)]. Those genotypes displayed the resistance of vitally important tissues to early winter frosts, frosts in the middle of winter up to –40 °C at the level of Antonovka Obyknovennaya as well as to the frosts after thaws and retained the ability to restore resistance during repeated hardening after thaws.

Key words: breeding; apple; selection seedlings; components of frost hardiness; modelling of damage factors; resistance.

В настоящее время приоритетными направлениями селекции яблони являются создание триплоидных иммунных к парше и колонновидных сортов яблони, а также селекция на улучшение биохимического состава плодов (Седов, 2011). Исключительный интерес представляют сорта, совмещающие в одном генотипе иммунитет к парше и триплоидный набор хромосом. Во ВНИИСПК под руководством академика Е.Н. Седова создано девять сортов яблони, обладающих иммунитетом к парше (с геном *Rvi6*) и имеющих триплоидный набор хромосом, из них у семи второй родитель является донором диплоидных гамет (тетраплоид). В настоящее время работа по реализации программы по селекции яблони на полиплоидном уровне и созданию новых перспективных сортов и форм продолжается (Седов и др., 1995, 2014; Седов, 2011).

Важный этап в селекции яблони – ускоренная оценка селекционного материала на зимостойкость. Исследованиями физиологов показано четкое различие четырех разных типов воздействия мороза на плодовые деревья в зимний период (Brierly, 1947; Тюрина, Гоголева, 1966, 1978; Weiser, 1970; Stushnoff, 1973; Тюрина, 1976, 2000). Эти исследования позволили выделить основные составляющие данного комплекса воздействия и выразить их количественно как уровни морозоустойчивости тканей и органов в разные периоды зимы: быструю закалку и устойчивость к ранним морозам; устойчивость к критическим морозам; способность удерживать закалку в период оттепелей и к повторному приобретению закалки и морозостойкости после оттепелей. В настоящее время для оценки зимостойкости яблони широко используется лабораторный метод моделирования повреждающих факторов (Тюрина, Гоголева, 1978; Кичина, 1999; Тюрина и др., 2002; Cline et al., 2002; Linden, 2002; Alojzy et al., 2004; Савельев и др., 2010; Ожерельева и др., 2011, 2013; Красова и др., 2014).

Анализ адаптивных показателей новых генотипов яблони методом моделирования повреждающих факторов ускоряет оценку морозоустойчивости и позволяет выявить потенциал по компонентам устойчивости для определения возможностей их дальнейшего продвижения в сорта.

Цель данной работы – оценка отборных и элитных форм яблони, созданных инновационным путем в результате совмещения в генотипе иммунитета к парше с тройным набором хромосом (ген *Rvi6* + 3x), по устойчивости к зимним неблагоприятным условиям в полевых и лабораторных условиях.

Материалы и методы

Исследования проводили во ВНИИСПК в осенне-зимние периоды 2012, 2013 и 2014 гг. Объектами служили отборные и элитные сеянцы селекции института зимнего срока созревания, контролем – районированный сорт Антоновка обыкновенная (табл. 1).

Были использованы соответствующие методики изучения зимостойкости в полевых и лабораторных условиях методом моделирования повреждающих факторов (Тюрина и др., 2002) с применением морозильной камеры «ESPEC» PSL-2 KPN.

В программу исследований по изучению сортов яблони в контролируемых условиях входило определение потенциала устойчивости по следующим основным компонентам комплекса зимостойкости:

I – устойчивость к ранним морозам в конце ноября – начале декабря (–5 °С, –10 °С, –25 °С; –5 °С, –10 °С, –30 °С);

II – максимальный уровень морозостойкости при закалке в январе – феврале (–5 °С, –10 °С, –38 °С; –5 °С, –10 °С, –40 °С; –5 °С, –10 °С, –42 °С);

III – устойчивость в периоды оттепелей (–5 °С, –10 °С, +2 °С, –25 °С; –5 °С, –10 °С, +2 °С, –30 °С);

IV – способность восстанавливать устойчивость при повторной закалке после оттепелей (–5 °С, –10 °С, +2 °С, –5 °С, –10 °С, –30 °С).

Длительность воздействия температурами – закалка –5 °С (5 сут) и –10 °С (5 сут); затем снижение температуры по 5 °С в час до критической температуры; критические температуры – 8 ч; оттепель +2 °С (2 сут).

Обработку экспериментальных данных проводили методом дисперсионного анализа (Доспехов, 1973) с использованием компьютерной программы MS Excel. Оценку повреждений почек и тканей побегов проводили с помощью бинокулярного микроскопа МБС-2 по шкале: 0 – нет повреждений, 5 баллов – гибель тканей и почек после отращивания.

Результаты

В связи с периодически повторяющимися суровыми зимами и участившимися в последнее время резкими перепадами температуры сохраняет актуальность изучение вопросов устойчивости яблони к стрессорам зимнего периода для установления адаптивного потенциала новых селекционных сортов яблони в определенной зоне (Соловьева, 1967; Кичина, 1999; Khanizadeh et al., 2000; Седов, Красова, 2010; Quamme et al., 2010; Arora, Rowland, 2011; Красова и др., 2014).

Изучение зимостойкости исходных родительских форм, использованных при получении отборных и элитных сеянцев (ЭЛС), показало в полевых условиях хорошую зимостойкость сортов Афродита, Веньяминовское, Юбилей Москвы (с геном *Rvi6*) и среднеустойчивых к парше сортов Скрыжапель, Краса Свердловска, Гулливер даже в зиму 2011/2012 г. при снижении температуры воздуха до –39.9 °С в связи с хорошей закалкой осенью.

Иммунный сеянец 814, полученный из Франции, подмерзал даже в обычные зимы (Седов, Красова, 2010; Красова и др., 2014). Тетраплоидные сорта яблони Джаент спай и Уэлси тетраплоидный по зимостойкости значительно уступают среднерусским сортам. Тетраплоидная форма 13-6-106, выделенная среди сеянцев от свободного опыления диплоидного сорта Суворовец (Седов и др., 2014) на участке первичного изучения (прививки 1987 г. в крону Антоновки обыкновенной), проявила низкую зимостойкость, деревья сильно пострадали от морозов в зиму 2005/2006 г. Поэтому необходимо изучение зимостойкости новых селекционных форм, созданных (под руководством Е.Н. Седова) на основе адаптивных сортов с участием тетраплоидных и иммунных к парше форм яблони. Изучаемые отборные и гибридные формы в полевых условиях проявили достаточную для средней зоны садоводства устойчивость к неблагоприятным

Table 1. Selected and elite apple forms studied

Hybrid seedlings	Origin	Scab resistance
	Diploids (2*x*)	
Antonovka Obyknovennaya (control)	Variety of peoples selection	Resistant, damage up to 2.0 points
18-64-52	Seedling 814 – open pollination	Gene *Rvi6*
31-16-12	23-16-96 (814 – open pollination) × Gulliver	Gene *Rvi6*
31-35-58	Yubiley Moskvy × Krasa Sverdlovska	Gene *Rvi6*
ELS 31-15-126	23-16-96 (814 – open pollination) × Gulliver	Gene *Rvi6*
	Triploids (3*x*)	
ELS 26-44-94	11-24-28 (seedling Golden Grime) × Wealthy tetraploid	Resistant, damage up to 2.0 points
29-22-64	18-53-22 (Skryzhapel × OR18T13) × Wealthy tetraploid	Gene *Rvi6*
ELS 30-30-114	23-20-74 (seedling 814 – open pollination) × Giant Spy	Gene *Rvi6*
30-32-88	Prima × Giant Spy	Gene *Rvi6*
31-1-67	Afrodita × 13-6-106 (seedling from Suvorovetz open pollination)	Gene *Rvi6*
31-1-126	Afrodita × 13-6-106 (seedling from Suvorovetz open pollination)	Gene *Rvi6*
ELS 31-2-15	Afrodita × 13-6-106 (seedling from Suvorovetz open pollination)	Gene *Rvi6*
ELS 31-2-48	Afrodita × 13-6-106 (seedling from Suvorovetz open pollination)	Gene *Rvi6*
ELS 31-2-115	Afrodita × 13-6-106 (seedling from Suvorovetz open pollination)	Gene *Rvi6*
31-2-130	Afrodita × 13-6-106 (seedling from Suvorovetz open pollination)	Gene *Rvi6*
ELS 31-36-149	Veniaminovskoye × 25-34-144 (Wealthy tetraploid × Papirovka tetraploid)	Gene *Rvi6*

зимним условиям, но для их дальнейшего продвижения в сорта необходимо знание потенциала устойчивости к различным неблагоприятным условиям по компонентам морозостойкости.

Существенную роль играют условия предшествующих осенних месяцев. В годы исследований (2013 и 2014) условия складывались благоприятно для подготовки к зимним холодам: температура воздуха понижалась постепенно, осадки пополнили запас влаги в почве. Минимальная температура воздуха опускалась в декабре 2013 и 2014 гг. до –14.5 и –20.0 °С соответственно. Но в 2012 г. условия были менее благоприятными: теплый октябрь (средняя температура воздуха составила 7 °С – на 2.2 °С выше средней многолетней), теплый ноябрь (на 1.7 °С выше нормы) сменились резким похолоданием в середине декабря с минимальной температурой –28.6 °С в конце декабря. В такие годы условия для прохождения фаз закаливания складывались неблагоприятно, проведенное искусственное промораживание при различных температурах позволило определить потенциал устойчивости изучаемых гибридных форм по компоненту I морозостойкости.

В результате исследований (2012–2014 гг.) отборные и элитные гибридные сеянцы яблони в контролируемых условиях проявили способность без существенных повреждений почек выносить в начале декабря мороз до –25 °С после закалки (компонент I). Кора, камбий и древесина сохранились здоровыми. Искусственное промораживание гибридных форм показало, что изучаемые формы способны закаливаться и выдерживать раннезимние морозы при температуре –25 °С без существенных повреждений почек и основных тканей на уровне контроля – Антоновки обыкновенной. Снижение температуры промораживания до –30 °С привело, в первую очередь, к слабому повреждению вегетативных почек у ряда изученных форм до 1.0–1.3 балла, а также к небольшому повреждению коры, камбия, древесины – не более 1.0 балла. Слабые повреждения на уровне контроля отмечены у гибридов 18-64-52, ЭЛС 30-30-114, 31-1-126, ЭЛС 31-2-15, ЭЛС 31-2-130.

Изучаемые гибридные формы в среднем за три года проявили хорошую устойчивость к раннезимним морозам, основные жизненно важные ткани повреждались не более 1.0 балла, и к началу декабря большинство изученных гибридных форм яблони селекции института приобретали полную устойчивость к раннезимним морозам (табл. 2).

Для выяснения потенциала морозостойкости гибридных форм проводили промораживание побегов при моделировании температуры –38, –40 и –42 °С в январе (компонент II морозостойкости). Среднерусский сорт Антоновка обыкновенная (контроль) в среднем за три года показал высокую устойчивость почек, коры и древесины при температуре –38 и –40 °С; при –42 °С древесина повреждалась до 2.2 балла (табл. 3).

Изучаемые гибридные формы при температуре промораживания –38 °С способны развивать максимальную морозостойкость основных тканей с небольшими повреждениями на уровне контроля.

Table 2. Tissue damage scores of hybrid apple forms (Component I, –30 °C) averaged over 2012–2014

Hybrid seedlings	Damage score			
	Buds	Bark	Cambium	Wood
		Diploids		
Antonovka Obyknovennaya – control	0.3	0.1	0	0.1
18-64-52	0.5	0.3	0	0.2
31-16-12	0.9	0.5	–	0.1
31-35-58	1.1	0.8	0.5	0.5
ELS 31-15-126	1.3	0.5	0	0.4
		Triploids		
ELS 26-44-94	1.3	0.8	0.7	1.0
29-22-64	0.9	0.7	0.5	0.6
ELS 30-30-114	0.8	0.3	0.3	0.5
30-32-88	1.2	0.2	0	0.5
31-1-67	1.2	0.3	0.6	0.3
31-1-126	0.7	0.1	–	0
ELS 31-2-15	0.6	0.3	0.2	0.5
ELS 31-2-48	1.1	0.7	0.3	0.9
ELS 31-2-115	1.3	0.7	0.5	0.5
31-2-130	0.9	0.5	0.3	0.4
ELS 31-36-149	0.9	0.2	0.2	0.4
Mean	0.9	0.4	0.3	0.4
LSD_{05}	0.6	0.5	0.4	0.6

Table 3. Tissue damage scores of hybrid apple forms (Component II) averaged over 2012–2014

Hybrid seedlings	Damage score											
	–38 °C				–40 °C				–42 °C			
	a*	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
					Diploids							
Antonovka Obyknovennaya	0.1	0.1	0.1	0.7	1.0	0.3	0.1	1.8	1.8	1.4	0.9	2.2
18-64-52	2.2	1.2	1.0	2.0	1.5	0.9	0.6	2.0	2.7	2.7	1.9	2.3
31-16-12	1.9	1.0	0.7	2.0	2.3	1.9	1.4	2.2	–	–	–	–
31-35-58	1.8	0.9	0.4	1.7	2.3	1.5	1.0	2.3	2.6	1.7	1.4	2.6
ELS 31-15-126	2.0	0.7	0.4	1.0	2.7	2.0	1.6	2.0	2.6	1.4	1.2	2.4
					Triploids							
ELS 26-44-94	2.0	1.3	0.7	1.6	2.5	1.3	0.8	2.3	3.0	2.3	2.1	2.6
29-22-64	1.7	0.4	0.2	1.9	2.5	1.5	1.1	2.4	2.6	1.9	1.4	3.1
ELS 30-30-114	2.2	1.1	1.0	1.8	2.5	1.4	1.2	2.5	3.1	2.4	2.3	2.7
30-32-88	1.6	1.1	0.7	1.5	2.4	1.7	1.4	2.6	3.2	2.6	2.3	2.9
31-1-67	1.9	1.4	1.1	1.8	2.6	2.1	1.7	2.6	2.6	1.7	1.2	3.5
ELS 31-2-15	1.5	0.5	0.4	1.5	2.1	1.8	1.1	2.0	2.7	2.2	1.8	2.5
ELS 31-2-48	2.0	1.1	0.7	1.9	2.3	1.9	1.3	2.4	2.6	2.2	1.7	3.1
ELS 31-2-115	1.7	1.0	0.9	1.4	2.4	1.9	1.1	2.1	2.4	1.9	1.8	2.7
31-2-130	1.7	0.7	0.5	1.4	2.3	1.7	1.1	2.1	2.4	1.9	1.7	2.5
ELS 31-36-149	2.0	0.7	0.5	1.2	2.4	1.7	1.3	2.0	2.8	2.3	1.9	2.4
Mean	1.8	0.9	0.6	1.6	2.2	1.6	1.1	2.2	2.6	2.1	1.7	2.7
LSD_{05}	1.0	0.9	0.8	0.6	0.7	0.7	0.9	0.6	0.7	0.9	1.0	0.7

* a, buds; b, bark; c, cambium; d, wood.

Table 4. Tissue damage scores of hybrid apple forms (Component III) averaged over 2012–2014

Hybrid seedlings	Damage score							
	–25 °C				–30 °C			
	Buds	Bark	Cambium	Wood	Buds	Bark	Cambium	Wood
				Diploids				
Antonovka Obyknovennaya – control	0.8	0.1	0.1	0.2	0.8	0.4	0.2	0.4
18-64-52	1.9	1.4	0.9	1.0	2.1	1.2	1.0	1.1
ELS 31-15-126	1.7	0.7	0.2	0.9	2.4	1.7	1.0	1.6
31-16-12	2.0	0.9	0.6	0.8	3.1	2.1	1.1	1.7
31-35-58	1.2	0.6	0.1	0.7	1.8	1.2	0.8	1.1
				Triploids				
ELS 26-44-94	1.9	0.7	0.3	0.6	2.3	1.3	0.6	1.2
29-22-64	1.9	1.0	0.7	0.9	2.3	1.2	0.6	1.2
30-30-114	1.7	0.7	0.5	1.0	2.4	1.7	0.9	1.3
30-32-88	1.4	1.0	0.8	0.8	2.3	1.2	0.7	0.7
31-1-67	2.2	1.6	1.3	1.1	2.2	1.2	1.6	1.4
ELS 31-1-126	2.0	0.5	0.4	0.8	2.4	1.3	1.2	1.0
ELS 31-2-15	1.4	0.7	0.5	0.9	2.2	1.6	0.9	1.0
ELS 31-2-48	1.8	0.9	0.4	1.0	2.3	2.0	1.2	1.6
ELS 31-2-115	1.7	1.0	0.7	0.6	2.2	1.7	1.4	1.0
31-2-130	1.4	0.5	0.7	0.6	2.0	1.1	0.6	1.1
ELS 31-36-149	1.5	0.4	0.1	1.1	2.1	1.0	0.3	1.2
Mean	1.7	0.8	0.5	0.8	2.2	1.4	0.9	1.2
LSD_{05}	0.9	0.9	$F_{obs} < F_{exp}$	0.8	0.6	0.7	$F_{obs} < F_{exp}$	0.8

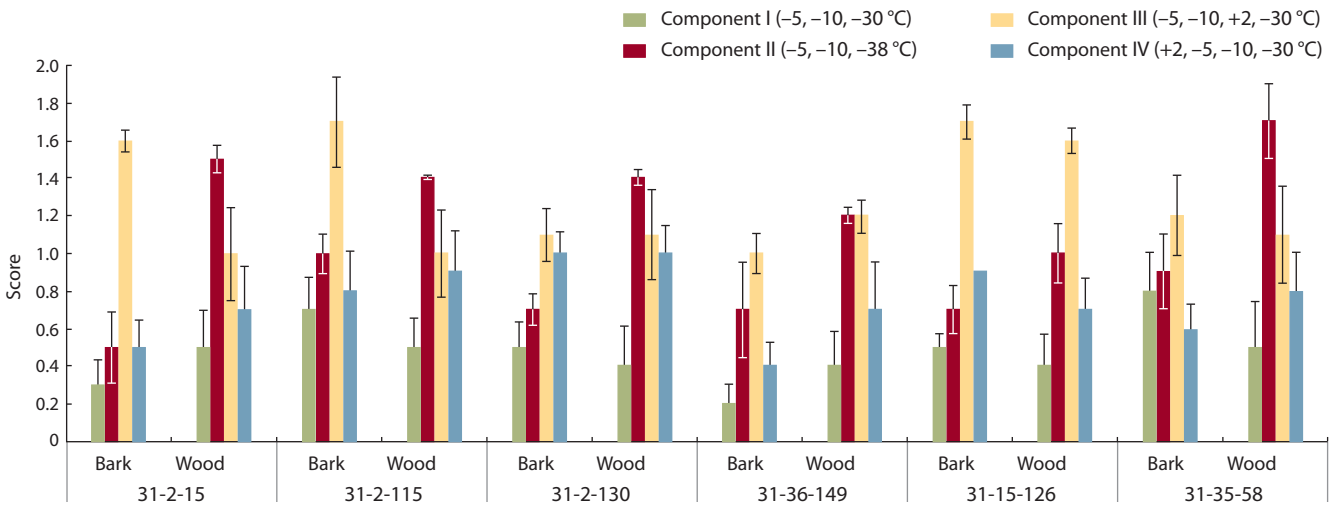
F_{obs}, Fisher's criterion, observed value; F_{exp}, expected value. If $F_{obs} < F_{exp}$, the difference between the mean values is insignificant.

При воздействии температурой –40 °С после закалки отмечено усиление повреждений коры и камбия, кроме гибридных форм18-64-52 (повреждение на уровне Антоновки обыкновенной по всем тканям), а также 26-44-94, 31-35-58 – по камбию. Повреждение древесины при этой температуре промораживания также усилилось, но у изученных ди- и триплоидов не превышало контроль, а у триплоидных форм 30-32-88, 31-1-67 и ЭЛС 30-30-114 отмечены повреждения на уровне 2.5–2.6 балла. Критическую для средней зоны садоводства температуру промораживания –40 °С большинство изученных форм переносило на уровне Антоновки обыкновенной.

Снижение температуры промораживания до –42 °С значительно усилило повреждение тканей, в том числе древесины, у ряда триплоидных форм до 2.9–3.1 балла. При воздействии температуры –42 °С устойчивость жизненно важных тканей на уровне Антоновки обыкновенной выявлена у иммунных к парше триплоидных форм ЭЛС 31-2-15, 31-2-115, 31-2-130 (Афродита × 13-6-106) и ЭЛС 31-36-149 [Веньяминовское × 25-35-144 (Уэлси тетраплоидный × Папировка тетраплоидная)], а также у иммунных к парше диплоидных 31-35-58 (Юбилей Москвы × Краса Свердловска) и ЭЛС 31-15-126 [23-16-96 (сеянец 814 от свободного опыления) × Гулливер].

Выявлена реакция генотипов на низкие температуры после искусственной оттепели (компонент III). Основным при режиме промораживания –25 и –30 °С после оттепели +2 °С было повреждение вегетативных почек до 2.4 балла, кроме гибридного сеянца 31-16-12, с необратимыми повреждениями почек (3.1 балла в среднем за три года) при температуре –30 °С. Ниже среднего по группе (но выше Антоновки обыкновенной) было повреждение почек у гибрида 32-35-58 при слабом повреждении коры, камбия и древесины. У всех изученных форм повреждения коры и древесины при морозах –30 °С после оттепелей носили обратимый характер и не превышали 1.0–2.0 балла. Выделились по устойчивости тканей и почек к морозам –30 °С после оттепели +2 ºС гибридные формы 31-2-130 и ЭЛС 31-36-149; высокая устойчивость древесины (на уровне Антоновки обыкновенной) отмечена у генотипов 30-32-88, 18-64-52, ЭЛС 31-1-126, ЭЛС 31-2-15, ЭЛС 31-2-115 и 31-35-28 (табл. 4).

Для благополучной перезимовки яблони большое значение имеет восстанавление морозостойкости после оттепели. Плавное понижение температуры после оттепелей приводит к частичному восстановлению морозостойкого состояния. Большинство изученных форм обладали способностью восстанавливать морозостойкое состояние



Assessment of frost tolerance components I–IV from the damage of tissues in promising hybrid apple seedlings, averaged over 2012–2014.

при понижении температуры до –30 °С после оттепели и повторной закалки.

На рисунке представлены перспективные устойчивые гибридные формы яблони. У них отмечены обратимые повреждения жизненно важных тканей, не превышающие 1.7 балла.

Обсуждение

Современный промышленный сорт яблони должен быть пригодным для интенсивных насаждений, обладать достаточным адаптивным потенциалом, приносить устойчивые урожаи высокотоварных плодов. Одним их важных признаков адаптивности считается зимостойкость плодового дерева – способность противостоять зимним неблагоприятным условиям. Зимостойкость – основной фактор, определяющий возможности возделывания сорта в данной зоне. Реализация генетически обусловленной зимостойкости у плодовых деревьев связана с подготовкой их к зиме и реакцией на неблагоприятные факторы осеннего и зимнего периодов.

В среднем за 2012–2014 гг. изучения гибридные формы к середине декабря приобретали хорошую закалку и проявили устойчивость жизненно важных тканей к раннезимним морозам –25 и –30 °С на уровне Антоновки обыкновенной (компонент I морозостойкости). По данным ряда исследований (Трунова, Резвякова, 1993; Кичина, 1999; Савельев и др., 2009), сорта отечественной селекции также выдерживали понижение температуры до –30 °С в ноябре после стандартной закалки –5 и –10 °С. Зарубежные сорта характеризуются более низкой устойчивостью к отрицательным температурам осенне-зимнего периода (Савельев, 1998; Савельев и др., 2009).

Изучение потенциала морозостойкости в середине зимы (компонент II) показало высокую устойчивость вегетативных почек, коры и древесины контроля – Антоновка обыкновенная – при температуре –38, –40 °С; при –42 °С древесина повреждалась до 2.2 балла. У изученных гибридных форм в середине зимы основным было повреждение вегетативных почек и древесины: вегетативные почки при воздействии низкими температурами –38 и –40 °С в середине зимы повреждались сильнее Антоновки обыкновенной. Высокая устойчивость вегетативных почек отмечена у формы 18-64-52 (при –40 °С). Изученные гибридные формы при температуре промораживания –38 °С способны развивать максимальную морозостойкость основных тканей с небольшими повреждениями на уровне контроля или не более 1.4 балла по коре и не более 2.0 балла по древесине (обратимые повреждения). Наибольшая устойчивость всех жизненно важных тканей (на уровне Антоновки обыкновенной) отмечена при температуре –38 °С у элитных форм 31-15-126 (2x) и 31-36-149 (3x).

Воздействие температурой –40 °С после закалки привело к усилению повреждений по всем тканям и особенно древесины даже у местного адаптированного сорта Антоновка обыкновенная. О возможности сильных повреждений древесины низкими температурами в середине зимы сообщали Н.И. Савельев с коллегами (2009) и Е.Н. Седов (2011). Повреждение древесины при этой температуре промораживания у изученных диплоидов не превышало контроль. На уровне контроля устойчивость всех тканей отмечена у формы 18-64-52, а также ЭЛС 26-44-94, 31-35-58 – по камбию и древесине и ЭЛС 31-2-15, ЭЛС 31-2-48, ЭЛС 31-15-126, ЭЛС 31-36-149, 31-2-115, 31-2-130 – по древесине (обратимые повреждения не выше 2.0–2.1 балла). Критические для средней зоны садоводства температуры –38 и –40 °С при искусственном промораживании большинство изученных форм переносили с повреждением жизненно важных тканей на уровне Антоновки обыкновенной. Некоторые авторы считают потенциалом устойчивости к низким температурам наиболее зимостойких сортов интервал от –42 до –44 °С (Савельев, 1998; Кичина, 1999).

Снижение температуры промораживания до –42 °С в середине зимы значительно усилило повреждение вегетативных почек и тканей как у Антоновки обыкновенной, так и у изучаемых форм. У иммунных к парше триплоидных форм ЭЛС 31-2-15, ЭЛС 31-2-115, 31-2-130 (Афродита × 13-6-106) и 31-36-149 [Веньяминовское × 25-35-144 (Уэлси тетраплоидный × Папировка тетраплоидная)], а также у иммунных к парше диплоидных форм 31-35-58

(Юбилей Москвы × Краса Свердловска) и ЭЛС 31-15-126 [23-16-96 (сеянец 814 свободного опыления) × Гулливер] выявлена устойчивость камбия, коры и древесины (жизненно важных тканей) на уровне контроля при воздействии этой температуры после закалки.

Моделирование трехдневной искусственной оттепели (2 °С) с последующим снижением температуры до –25 и –30 °С показало, что у всех изученных форм повреждения коры и древесины носили обратимый характер и не превышали 2.0 балла. Высокий уровень устойчивости коры, древесины и камбия к резкому перепаду температуры после оттепелей зимой (повреждение на уровне Антоновки обыкновенной) выявлен у иммунных триплоидных форм 31-2-130 и ЭЛС 31-36-149 (компонент III).

Большинство изученных форм обладали способностью восстанавливать морозостойкое состояние тканей при понижении температуры до –30 °С после оттепели и повторной закалки (компонент IV). О высокой способности восстанавливать устойчивость тканей к понижению температуры до –35 °С при повторной закалке после оттепели (3 °С) сообщали Н.И. Савельев (1998), а также у иммунных отечественных сортов – В.А. Трунова и С.В. Резвякова (1993), Н.И. Савельев с коллегами (2009).

Анализ результатов искусственного промораживания отборных и элитных форм показал, что при искусственном промораживании побегов основным было повреждение вегетативных почек и древесины как в раннезимний период, так и при резком снижении температуры в середине зимы. При низких отрицательных температурах в зимний период повреждение древесины является основным лимитирующим фактором устойчивости. Для коры и камбия характерен более высокий уровень устойчивости, что согласуется со многими исследованиями (Соловьева, 1967; Тюрина, 2000; Савельев и др., 2010). Камбий при заданных температурах был более устойчив (отмечены обратимые повреждения до 2.0 балла) у всех гибридных форм при снижении температуры до –38 °С и –40 °С (компонент II), а также до –30 °С после оттепелей (компонент III). Даже при температуре –42 °С в середине зимы повреждение камбия менее 2.0 балла отмечено у всех диплоидных форм и у ряда триплоидов. Порог устойчивости для изученных гибридных форм – понижение температуры в середине зимы после закалки до –40 °С.

Выводы

1. В результате трехлетнего изучения морозостойкости гибридных форм яблони методом моделирования повреждающих факторов выявлены различия по устойчивости к неблагоприятным условиям (по компонентам I–IV) и выделены генотипы с высоким потенциалом морозостойкости:
– иммунные к парше триплоидные формы ЭЛС 31-2-15, ЭЛС 31-2-115, 31-2-130 (Афродита × 13-6-106) и ЭЛС 31-36-149 [Веньяминовское × 25-35-144 (Уэлси тетраплоидный × Папировка тетраплоидная)];
– иммунные к парше диплоиды 31-35-58 (Юбилей Москвы × Краса Свердловска) и ЭЛС 31-15-126 [23-16-96 (сеянец 814 от свободного опыления) × Гулливер.

Эти генотипы проявили устойчивость жизненно важных тканей к раннезимним морозам; морозам в середине зимы (–38 ÷ –40 °С) и после оттепелей и сохранили способность восстанавливать устойчивость при повторной закалке после оттепелей с обратимыми повреждениями не более 2.0 балла.

2. По устойчивости на уровне Антоновки обыкновенной вегетативных почек и тканей к раннезимним морозам (компонент I) и морозам в середине зимы при понижении температуры до –40 °С (компонент II) выделилась иммунная диплоидная форма 18-64-52 (сеянец 814 от свободного опыления).

3. У триплоида 29-22-64 [18-53-22 (Скрыжапель × OR18T13) × Уэлси тетраплоидный] выявлена высокая устойчивость коры к морозу –38 °С в середине зимы (компонент II).

4. Устойчив к раннезимним морозам и морозам до –25 °С после оттепелей (компонент III) диплоид 31-16-12 [(23-16-96 (814 – от свободного опыления) × Гулливер].

5. Высокую устойчивость древесины к морозам в период оттепелей (компонент III) показали гибридные формы 31-35-58 (Юбилей Москвы × Краса Свердловска) и 30-32-88 (Прима × Джаент спай). Самая высокая способность сохранять зимостойкое состояние тканей (коры, древесины, камбия) во время мороза после оттепели выявлена у триплоидов 31-2-130 и ЭЛС 31-36-149 (компонент III).

6. Все изученные генотипы проявили способность восстанавливать морозостойкое состояние после оттепели и повторной закалки (компонент IV).

7. При всех режимах промораживания наиболее уязвимы были почки побегов. Повреждения камбия у изученных генотипов при всех режимах промораживания были на уровне Антоновки обыкновенной, кроме триплоидных форм ЭЛС 26-44-94 [11-24-28 (сеянец Голден Грайма от свободного опыления) × Уэлси тетраплоидный], ЭЛС 30-30-114 [23-20-74 (сеянец 814 от свободного опыления) × Джаент спай] и 30-32-88 (Прима × Джаент спай) при температуре –42 °С.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Alojzy C., Grzegorz H., Malgorzata H., Dorota K. Susceptibility of one-year-old shoots of scab-resistant apple cultivars to low temperatures in laboratory tests during four winters (1999/2000–2002/2003). Folia Horticult. 2004;61-72.

Arora R., Rowland L.J. Physiological research on winter-hardiness: deacclimation resistance, reacclimation ability, photoprotection strategies and a cold acclimation protocol design. Hort. Sci. 2011;46(8): 1070-1078.

Brierly W.G. The winter hardiness complex in deciduous woody plants. Proc. Am. Soc. Hort. Sci. 1947(50):10-16.

Cline J.A., Neilsen D., Neilsen G., Brownlee R., Norton D., Quamme H. Cold hardiness of new apple cultivars of commercial importance in Canada. J. Am. Pomol. Soc. 2002;66(4):174-182.

Dospekhov B.A. Metodika polevogo opyta [Technique of field experiments]. Moscow, Kolos Publ., 1973;202-271. (in Russian)

Khanizadeh S., Brodeur C., Granger R., Buszard D. Factors associated with winter injury to apple trees. Acta Horticulturae. 2000;514:179-192.

Kichina V.V. Selektsiya plodovykh i yagodnykh kultur na vysokiy uroven' zimostoikosti [Fruit and berry breeding for high level of winter hardiness]. Moscow, 1999. (in Russian)

Krasova N.G., Ozherelieva Z.E., Golyshkina L.V., Makarkina M.A., Galasheva A.M. Zimostoykost' sortov yabloni [Winter hardiness of apple cultivars]. Orel, 2014. (in Russian)

Linden L. Measuring cold hardiness in woody plants. University of Helsinki, Department of Applied Biology, Publ. No. 10. Helsinki, 2002.

Ozherelieva Z.E., Krasova N.G., Galasheva A.M. The resistance potential of apple cultivars in winter. Vestnik OrelGAU = OrelSAU Newsletter. 2011;3:35-39. (in Russian)

Ozherelieva Z.E., Krasova N.G., Galasheva A.M. Apple frost resistance in the middle of winter. Contemporary Horticulture. 2013;1:1-4. Available at: http://journal.vniispk.ru/pdf/2013/1/1.pdf. (in Russian)

Quamme H., Cannon A., Neilsen D., Caprio J., Taylor W. The potential impact of climate change on the occurrence of winter freeze events in six fruit crops grown in the Okanagan Valley. J. Plant Sci. 2010;90:8593-8596.

Savel'ev N.I. Geneticheskie osnovy selektsii yabloni [Genetic principles of apple breeding]. Michurinsk, 1998. (in Russian)

Savel'ev N.I., Savelieva N.N., Yushkov A.N. Perspektivnye immunnye k parshe sorta yabloni [Promising scab immune apple cultivars]. Michurinsk – Naukograd RF, 2009. (in Russian)

Savel'ev N.I., Yushkov A.N., Savelieva N.N., Zemisov A.S., Chivilev V.V., Kirillov R.E., Akimov M.Yu., Gladysheva M.B., Kruzhkov Al.V., Konyuhova A.A., Chmir R.A., Bogdanov R.E., Kruzhkov An.V. Geneticheskiy potentsial ustoychivosti plodovykh kul'tur k abioticheskim stressoram [The genetic potential of fruit crop resistance to abiotic stressors]. Michurinsk – Naukograd RF, 2010. (in Russian)

Sedov E.N. Selektsiya i novye sorta yabloni [Apple breeding and new varieties]. Orel, 2011. (in Russian)

Sedov E.N., Krasova N.G. Winter hardiness of apple cultivars. Agrarnyy nauchnyy zhurnal = Agrarian Scientific Journal. 2010;2:20-23. (in Russian)

Sedov E.N., Sedysheva G.A., Makarkina M.A., Serova Z.M., Korneyeva S.A. Prioritetnye napravleniya v selektsii yabloni [Frontiers in apple breeding]. Selektsiya i sortorazvedenie sadovykh kul'tur. Innovatsionnye priemy v selektsii i sovershenstvovanie sortimenta plodovykh i yagodnykh kul'tur [Breeding and Variety Propagation of Orchard Crops: Innovational methods in breeding and fruit and berry assortment improvement]. Orel, 2014;1:3-28. (in Russian)

Sedov E.N., Serova Z.M., Krasova N.G., Sedysheva G.A. New triploid apple variety 'Pamyat' Semakinu'. Sadovodstvo i vinogradarstvo = Horticulture and Viticulture. 1995;2:13-14. (in Russian)

Solov'eva M.A. Zimostoykost' plodovykh kul'tur pri razlichnykh usloviyakh vyrashchivaniya [Winter hardiness of fruit crops in different conditions of growing]. Moscow: Kolos Publ., 1967. (in Russian)

Stushnoff C. Breeding for cold hardiness. Horticulture. 1973;51(10):10-31.

Trunova V.A., Rezviakova S.V. Komponenty zimostoykosti ustoychivykh k parshe sortov i gibridov yabloni [Winter hardiness components of scab resistant apple cultivars and hybrids]. Selektsiya i sortorazvedenie sadovykh kul'tur [Breeding and Variety Propagation of Orchard Crops]. Orel, 1993;64-72. (in Russian)

Tyurina M.M. Kompleksnaya otsenka rasteniy na zimostoykost'. Metody otsenki ustoychivosti rasteniy k neblagopriyatnym usloviyam sredy [Integrated assessment of winter hardiness in plants. Methods of the assessment of plant resistance to adverse environmental conditions]. Moscow, 1976;171-183. (in Russian)

Tyurina M.M. Mekhanizm adaptatsii k povrezhdayushchim faktoram kholodnogo vremeni goda u plodovykh i yagodnykh kul'tur [A mechanism of fruit and berry crop adaptation to damaging factors of the cold season]. Biologicheskiy potentsial sadovykh rasteniy i puti ego realizatsii: Mater. mezhdunar. konf. (19–22 iyulya 1999 g., Moskva) [Proc. Intern. Conf. "The biological potential of orchard plants and ways of its fulfilment" (July 19–22, 1999, Moscow)]. Moscow, 2000;15-24. (in Russian)

Tyurina M.M., Gogoleva G.A. Vliyanie iskusstvennykh ottepeley na morozostoykost' plodovykh rasteniy v svyazi s sostoyaniem pokoya [Artificial thaw influence on frost resistance in fruit plants in connection with their dormancy]. Doklady sovetskikh uchenykh k XVII mezhdunarodnomu kongressu po sadovodstvu [Reports of Soviet scientists. XVII Intern. Congress on Horticulture]. Moscow, 1966:297-306. (in Russian)

Tyurina M.M., Gogoleva G.A. Uskorennaya otsenka zimostoykosti plodovykh i yagodnykh rasteniy [Fast winter hardiness assessment in fruit and berry plants: Guidelines]. Moscow, 1978. (in Russian)

Tyurina M.M., Gogoleva G.A., Yefimova N.V., Goloulina L.K., Morozova N.G., Echedy J.J., Volkov F.A., Arsentieva A.P., Matyash N.A. Opredelenie ustoychivosti plodovykh i yagodnykh kul'tur k stressoram kholodnogo vremeni goda v polevykh i kontroliruemykh usloviyakh [The determination of fruit and berry crop resistance to stressors of the cold season in the field and under controlled conditions]. Moscow, 2002. (in Russian)

Weiser C.J. Cold resistance and injury in woody plants. Science. 1970;169(3952):1269-1277.

Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):222-226
DOI 10.18699/VJ17.240

Изучение ранних этапов развития колоса со спиральным расположением колосков линий мягкой пшеницы (*T. aestivum* L.) нестандартного морфотипа SCR

О.Б. Добровольская[1, 2] ✉, А.А. Красников[3], К.И. Попова[1, 4], П. Мартинек[5], Н. Ватанабе[6]

[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
[3] Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
[4] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный аграрный университет», Новосибирск, Россия
[5] Агротест Фито, Лтд, Кромержиж, Чешская Республика
[6] Колледж сельского хозяйства, Университет Ибараки, Инашики, Япония

Особенности развития соцветия мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L., колоса, определяют его архитектуру и оказывают влияние на показатели продуктивности. Линии и формы пшеницы с измененной морфологией соцветия являются важным генетическим ресурсом как для изучения генетических механизмов, лежащих в основе программ развития растений и определяющих их архитектуру, так и для практического использования с целью повышения урожайности. В норме у пшеницы колоски располагаются двумя параллельными рядами вдоль оси колоса, формируя двурядный колос. Линии нестандартного морфотипа SCR (screwed spike rachis) мягкой пшеницы характеризуются спиральным расположением колосков вдоль колосового стержня. Изучение ранних этапов развития соцветия SCR-линий с использованием световой и сканирующей электронной микроскопии показало, что спиральное расположение колосков не связано с изменениями или нарушениями на ранних этапах развития соцветия при закладке и дифференцировке меристем соцветия и формировании органов соцветия, а является следствием особенностей роста клеток колосового стержня на более поздних этапах роста колоса. Таким образом, обнаружено, что спиральное расположение колосков в соцветии злаков может быть обусловлено особенностями не только закладки и взаимного расположения колосковых меристем соцветия (типом филлотаксиса соцветия), но и роста клеток на более поздних этапах роста соцветия. Показано, что признак SCR наследуется как доминантный моногенный. На проявление признака может влиять генотипическая среда. Линии морфотипа SCR, охарактеризованные с применением световой и сканирующей электронной микроскопии, представляют собой важный генетический ресурс для дальнейшего изучения молекулярно-генетических механизмов, определяющих архитектуру колоса. Кроме того, они могут быть использованы при создании линий и сортов пшеницы с новыми типами колоса, например, сочетание SCR и многоколосковости может обеспечить больше пространства и освещенности для развивающихся колосков в составе кластера из множества колосков.

Ключевые слова: мягкая пшеница; *Triticum aestivum* L.; развитие соцветия; филлотаксис, сканирующая электронная микроскопия.

Study on early inflorescence development in bread wheat (*T. aestivum* L.) lines with non-standard SCR-morphotype

O.B. Dobrovolskaya[1, 2] ✉, A.A. Krasnikov[3], K.I. Popova[1, 4], P. Martinek[5], N. Watanabe[6]

[1] Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia
[2] Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia
[3] Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Novosibirsk, Russia
[4] Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia
[5] Agrotest Fito, Ltd, Kromeriz, Czech Republic
[6] College of Agriculture, Ibaraki University, Inashiki, Japan

Features of wheat (*Triticum aestivum* L.) inflorescence development define its architecture and have an impact on yield potential. Wheat lines and forms with altered inflorescence morphology are important genetic resources for the study on the genetic mechanisms underlying plant developmental programs and inflorescence architecture; they are also important for practical use to increase productivity. Normally, wheat spikelets are arranged in two parallel rows along the spike axis. The SCR (screwed spike rachis) lines represent a non-standard morphotype, which is characterized by a spiral arrangement of spikelets along the spiked rachis. The study of the early stages of the inflorescence development in SCR-lines using light and scanning electron microscopy revealed that the spiral arrangement of spikelets were not related to changes at the early stage of inflorescence development, and resulted from spiral growth of spike rachis cells at later stages of spike growth. Thus, the spiral arrangement of spikelets in cereal inflorescence may have resulted not only from peculiarities of the mutual arrangement of spikelet meristems (phyllotaxis), but also from cell growth features at later stages of inflorescence growth. It was shown that SCR is inherited as a dominant monogenic trait; its expression can be modified by genotypic background. The SCR-lines characterized using light and scanning electron microscopy represent an important genetic resource

Received 30.09.2016
Accepted for publication 28.12.2016
© AUTHORS, 2017

✉ e-mail: oxanad@bionet.nsc.ru

for further study of the molecular-genetic mechanisms determining plant architecture. Furthermore, they can be used to develop wheat lines and cultivars with new inflorescence phenotypes.

Key words: bread wheat; *Triticum aestivum* L.; inflorescence development; phyllotaxis; scanning electron microscopy.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Добровольская О.Б., Красников А.А., Попова К.И., Мартинек П., Ватанабе Н. Изучение ранних этапов развития колоса со спиральным расположением колосков линий мягкой пшеницы (*T. aestivum* L.) нестандартного морфотипа SCR. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):222-226. DOI 10.18699/VJ17.240

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Dobrovolskaya O.B., Krasnikov A.A., Popova K.I., Martinek P., Watanabe N. Study on early inflorescence development in bread wheat (*T. aestivum* L.) lines with non-standard SCR-morphotype. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(2):222-226. DOI 10.18699/VJ17.240

Изучение молекулярно-генетических механизмов, лежащих в основе развития цветка и соцветия растений, – актуальная проблема современной генетики развития. Прежде всего, это обусловлено тем, что цветок – важнейший репродуктивный орган покрытосеменных растений, непосредственно участвующий в процессах опыления, оплодотворения и развития зародыша, формирования семян и плодов. Особенности развития соцветия, связанные с идентичностью и детерминированностью его меристем, а также типом филлотаксиса, определяют его архитектуру, от которой зависит число цветков и развитие систем проводящих тканей соцветия. У злаков каждый цветок дает начало только одной зерновке, и общее число фертильных цветков соцветия определяет потенциальное число зерновок (Культурная флора СССР, 1979). Структура проводящей системы соцветия влияет на способность растения обеспечивать развивающиеся цветки продуктами фотосинтеза и определяет не только их число, но и размер. Исследования фенотипических, физиологических, молекулярно-генетических аспектов развития соцветия широко проводятся во всем мире. Наиболее изученными к настоящему времени являются несколько модельных видов растений, включая *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. и два важных сельскохозяйственных вида, рис *Oryza sativa* L. и кукуруза *Zea mays* L. У мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. генетические механизмы, лежащие в основе развития соцветия (колоса), изучены в меньшей степени.

Мягкая пшеница – широко распространенная во всем мире важная зерновая культура, повышению урожайности которой уделяется большое внимание. Линии и формы пшеницы с измененным строением соцветия, колоса представляют собой важный генетический ресурс как для изучения генетических механизмов, лежащих в основе программ развития растений и определяющих их архитектуру, так и для практического использования с целью повышения урожайности.

Развитие соцветия у злаков Poaceae начинается с превращения апикальной меристемы побега, дающей начало листовым примордиям (зачаткам) на вегетативной стадии развития, в меристему соцветия. На следующем этапе развития появляются латеральные структуры – это либо меристемы ветвей соцветия (рис, сорго и др.), либо колосковые меристемы (пшеница, рожь, ячмень и др.) (Malcomber et al., 2006). Колосковые меристемы пшеницы дают начало одиночным сидячим колоскам, которые расположены на оси колоса двумя параллельными продольными рядами, формируя двурядный колос пшеницы стандартного морфотипа. Развитие в уступах вторичных осей, дополнительных колосков или изменение порядка взаимного расположения одиночных колосков приводит к формированию колосьев нестандартных морфотипов (Martinek, Bednar, 1998). Среди линий мягкой пшеницы с нестандартными морфотипами наиболее полно изучены многоколосковые формы. Детальный анализ особенностей развития линий и форм с дополнительными колосками с использованием микроскопии, методов классической и молекулярной генетики позволил впервые выделить гены, ключевые регуляторы развития соцветия пшеницы на стадии формирования колоска (Martinek, Bednar, 2001; Dobrovolskaya et al., 2009; Добровольская и др., 2014а, б; Boden et al., 2015; Dobrovolskaya et al., 2015). Что касается линий с измененным порядком расположения одиночных сидячих колосков на колосовом стержне, они в настоящее время остаются мало изученными.

J. Smoček (1991) создал линии мягкой пшеницы со спиральным колосом на основе материала разного происхождения – формы ZGK 242-82 (бывшая Югославия) и сорта Chiarano (Италия). Признак был назван SCR (screwed spike rachis). Было показано, что признак SCR стабильно наследовался, на его проявление оказывали влияние условия окружающей среды. Различия проявления SCR у растений, полученных от разных доноров, были связаны с отсутствием (ZGK 242-82) или наличием (Chiarano) скручивания колосоножки и различной пенетрантностью гена, детерминирующего SCR-фенотип, которая составила 94 и 60 % у линий, полученных на основе многократного самоопыления от доноров ZGK 242-82 и Chiarano. Генетические факторы, определяющие признак SCR, были названы *Scr1* (ZGK 242-82) и *Scr2* (Chiarano).

Дальнейшие исследования проводили на линиях, полученных на основе формы ZGK 242-82; потомки сорта Chiarano со спиральным расположением колосков на колосовом стержне были, по-видимому, утеряны. Изучение ранних этапов развития колоса морфотипа SCR до настоящего времени не проводилось. Спиральное расположение колосков линии SCR может быть следствием изменения филлотаксиса (порядка взаимного расположения органов) колоса. У злаков так же, как и у всех цветковых растений, порядок расположения листьев и латеральных структур соцветий (филлотаксис) является важным систематическим признаком. Порядок расположения латеральных структур соцветия может продолжать

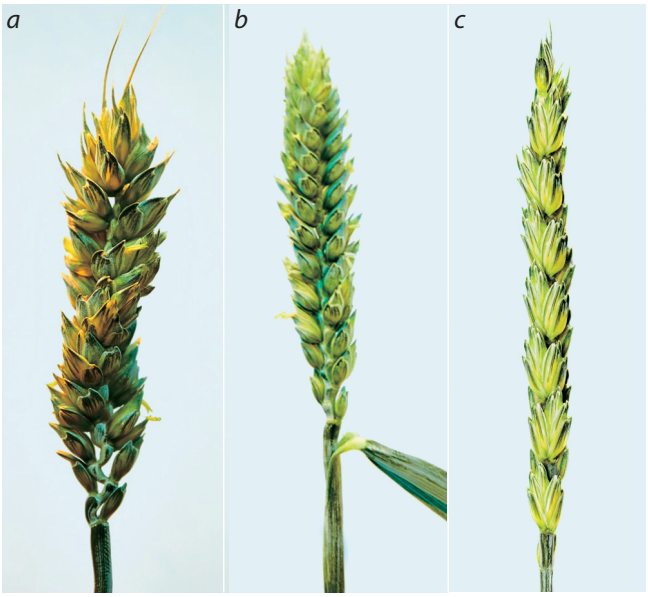


Fig. 1. SCR-morphotype spikes of lines: (*a*) Ruc. 34-11 and (*b*) Ruc. 30-11; (c) a standard spike of cv. Novosibirskaya 67.

порядок расположения листьев или отличаться от него. Для всех видов семейства злаков характерно очередное образование листовых зачатков под углом 180° друг к другу, а латеральные структуры соцветия у большинства видов формируются по спирали с меньшим углом (Kellogg et al., 2013). Исключением являются представители Pooideae, включая пшеницу, ячмень, рожь; у видов этого подсемейства смена филлотаксиса не происходит, что приводит к формированию двурядного соцветия (колоса у пшеницы, ячменя, ржи) (Bonnett, 1936). E.A. Kellogg с коллегами (2013) показали, что такой тип филлотаксиса характерен более чем для 3000 видов Pooideae и исключением является только один вид. Морфология и генетика «переключения» филлотаксиса интенсивно изучались у кукурузы и риса (Ikeda et al., 2005), однако о генетических механизмах, регулирующих филлотаксис соцветия видов подсемейства Pooideae, известно очень мало (Kellogg et al., 2013). Показано, что мутация *cul2* (6H) подавляет развитие дополнительных побегов и приводит к изменению филлотаксиса соцветия ячменя (Babb, Muehlbauer, 2003), однако других данных о генетическом контроле филлотаксиса видов подсемейства Pooideae в настоящее время в литературе нет. Основная причина, по-видимому, – это отсутствие форм с измененным филлотаксисом.

Цель настоящего исследования – изучение ранних этапов развития соцветия пшеницы морфотипа SCR со спиральным расположением колосков на колосовом стержне с использованием световой и сканирующей электронной микроскопии. Полученные результаты важны для понимания генетических механизмов, лежащих в основе развития соцветия пшеницы и злаковых в целом.

Материалы и методы

Объектом исследования послужили линии мягкой озимой пшеницы *T. aestivum* Ruc. 30-11 и Ruc 34-11, полученные д-ром П. Мартинеком (Институт сельскохозяйственных исследований, г. Кромержиж, Чешская Республика). Донором SCR-признака изучаемых линий была форма пшеницы ZGK 242-82 (бывшая Югославия). Растения выращивали в условиях гидропонной теплицы ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск) на протяжении двух вегетаций: осенне-зимней (октябрь–январь 2015 г.) и весенней (февраль–май 2016 г.).

Развивающиеся соцветия линий Ruc. 30-11 и Ruc. 34-11 со спиральным расположением колосков на колосовом стержне и линии сорта Новосибирская 67 со стандартным типом колоса (контроль) вычленяли с использованием бинокулярного микроскопа Альтами ПС0745 («Альтами», г. Санкт-Петербург, Россия) из растений, выращенных в условиях гидропонной теплицы. Особенности развития соцветия изучали при помощи стереомикроскопа Carl Zeiss SteREO Discovery V12 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия) и сканирующего электронного микроскопа Hitachi TM-1000 (Co. Ltd, Япония) при постоянном ускоряющем напряжении 15 кВ и степени разряжения в камере для образца 30-50 Па. Растительный материал для сканирующей электронной микроскопии не подвергали предварительной обработке. Для получения и обработки изображений использовали цифровую камеру высокого разрешения AxioCam MRc-5 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия) и программное обеспечение AxioVision 4.8, а также оригинальное программное обеспечение для Hitachi TM-1000.

Для изучения типа наследования признака SCR были получены гибриды F_1 и F_2 от скрещивания линии Ruc. 30-11 и мягкой пшеницы сорта Новосибирская 67 (H67). Проводилась визуальная оценка фенотипа колоса растений родительских линий и гибридов (стандартный двурядный колос или колос со спиральным расположением колосков). Соответствие фактического расщепления теоретически ожидаемому оценивали по критерию χ^2 (Рокицкий, 1973).

Результаты и обсуждение

Колосья растений линий Ruc. 30-11 и Ruc. 34-11, выращенных в условиях гидропонной теплицы, представляли SCR-морфотип, колоски располагались на колосовом стержне по спирали. Степень выраженности SCR-признака (скрученность колоса) у линий была неодинакова, у Ruc. 34-11 – более выражена. Колосья растений контрольной линии сорта Новосибирская 67 имели стандартный для пшеницы морфотип (рис. 1).

Особенности развития соцветия линий мягкой пшеницы SCR были изучены с использованием сканирующей электронной и световой микроскопии. Анализ развивающегося соцветия SCR-линий показал, что на самых ранних этапах развития при закладке латеральных меристем (у пшеницы это колосковые меристемы, КМ), КМ располагались очередно, каждая под углом 180º по отношению к предыдущей, и формировали два параллельных ряда (рис. 2). Такой порядок развития латеральных меристем характерен для *T. aestivum*, видов пшеницы разного уровня плоидности и для представителей Pooidea в целом (Shitsukawa et al., 2009; Kellogg et al., 2013; Dobrovolskaya et al., 2015). В отличие от пшеницы у видов со спиральным филлотаксисом соцветия каждая последу-

ющая латеральная меристема соцветия развивается под углом меньше 180° по отношению к предыдущей, в результате чего латеральные органы располагаются по спирали (Kellogg et al., 2013). У пшеницы на следующем этапе развития соцветия происходит дифференцировка КМ: на периферии КМ появляются зачатки органов колоска, колосковые чешуи (КЧ), далее закладываются цветковые меристемы (ЦМ). На следующем этапе развития начинается дифференцировка ЦМ, первыми становятся различимыми зачатки цветковых чешуй (ЦЧ), после чего закладываются органы цветка. Колосок пшеницы развивается акропетально, первыми появляются цветки, расположенные в базальной части колоска, затем расположенные дистально, а колос развивается от центральной части к периферии, таким образом, колоски, расположенные в центральной части колоса, формируются быстрее. После закладки колосковых меристем развитие соцветия SCR-линий проходило по описанной выше схеме и не отличалось от развития соцветий линии пшеницы сорта Новосибирская 67, а также других линий и сортов пшеницы стандартных морфотипов, описанных ранее (см. рис. 2).

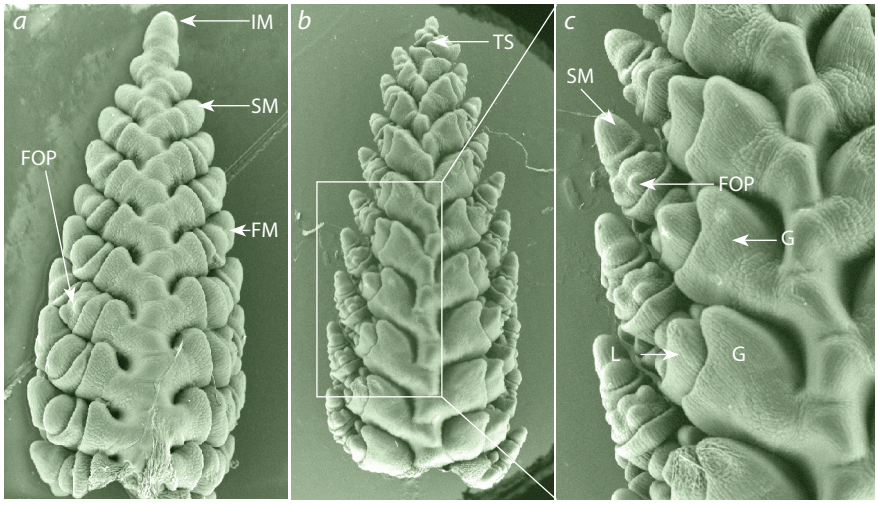


Fig. 2. Developing inflorescence of the SCR-morphotype. Scanning electron microscopy images of a Ruc. 30-11 inflorescence: (*a*) at the early floret differentiation stage, (*b*, *c*), stage of terminal spikelet differentiation.

IM, inflorescence meristem; SM, spikelet meristem; FM, floral meristem; FOP, flower organ primordia; G, glume; L, lemma, TS, differentiating terminal spikelet.

Все этапы развития соцветия SCR-линий пшеницы, связанные с закладкой и последующей дифференцировкой меристемы соцветия, колосковых и цветковых меристем, не несли изменений. Взаимное расположение колосков у SCR-линий на всех этапах морфогенеза соцветия, начиная с закладки колосковых меристем и заканчивая превращением меристемы соцветия в меристему терминального колоска, не изменялось и соответствовало нормальному типу колоса у Новосибирской 67. Ранее было показано, что у растений со спиральным филлотаксисом соцветия, к которым относится большинство видов злаков, включая рис, сорго и другие, спиральное расположение латеральных меристем соцветия становится заметным на самых ранних этапах развития соцветия, начиная с формирования нескольких первых латеральных меристем (Kellogg et al., 2013; Bartlett, Thompson, 2014).

Идентичность меристем определяет тип органов, которым они дают начало. Известно, что идентичность меристем и филлотаксис тесно связаны между собой, и часто смена идентичности меристем сопровождается изменением филлотаксиса (Bartlett, Thompson, 2014). Более того, показано, что у мутантов как одно-, так и двудольных растений существенные нарушения развития меристем (и идентичности, и детерминированности) вызывают смену филлотаксиса; примером могут служить мутанты *lfy* арабидопсис, у которых конверсия базальных цветков во вторичные генеративные побеги сопровождается сменой филлотаксиса (Weigel et al., 1992); двойные мутанты кукурузы *bde zag1* и *ifa1 ids*, у которых происходит превращение детерминированных цветковых или колосковых меристем в меристемы вторичных осей соцветия, что также сопровождается сменой филлотаксиса (Laudencia-Chingcuanco, Hake, 2002; Thompson et al., 2009). В нашем исследовании не обнаружено изменений идентичности и/или детерминированности меристем развивающихся соцветий SCR-линий.

Таким образом, морфологические особенности изучаемых SCR-линий не являются следствием изменений морфогенеза соцветия (нарушений идентичности, детерминированности меристем, изменения филлотаксиса), а связаны с особенностями роста клеток колосового стержня на более поздних этапах роста колоса. Данные изменения детерминированы генетически, как было показано ранее (Smoček, 1991) и подтверждено результатами настоящего исследования. Гибриды поколения F_1, полученные при скрещивании линий SCR и H67, имели колос морфотипа SCR, а в поколении F_2 наблюдали расщепление 110 растений со спиральным колосом: 42 растения с колосом стандартного типа, что соответствовало расщеплению 3 : 1 ($\chi^2 = 0.010$ ($df = 1$), $0.9 < p < 0.975$), следовательно, SCR наследуется как доминантный моногенный признак. На степень проявления SCR-фентипа влияют факторы окружающей среды, как было показано ранее (Smoček, 1991), и генотипическая среда, как обнаружено в настоящем исследовании, так как линии пшеницы Ruc. 30-11 и Ruc. 34-11, у которых ген *Scr1*, полученный от одного и того же донора признака SCR, функционирует в разной генотипической среде, различаются степенью выраженности SCR-признака.

Линии морфотипа SCR, охарактеризованные с использованием световой и сканирующей электронной микроскопии, представляют собой уникальный генетический ресурс для дальнейшего изучения молекулярно-генетических механизмов, определяющих архитектуру колоса. Кроме того, SCR-линии

интересны с точки зрения создания форм пшеницы с новыми морфотипами колоса, например, при получении форм с увеличенным числом колосков в уступе колоса в сочетании с SCR, при этом спиральное расположение колосков обеспечивает больше пространства и освещенности для развивающихся колосков в составе кластера, что может способствовать увеличению размера зерновок у многоколосковых форм.

Acknowledgments

This work was supported by State Budgeted Project 0324-2016-0001 and the Russian Foundation for Basic Research, projects 15-04-05371 A and 16-54-53064 GFEN_a.

P. Martinek acknowledges the support of the Ministry of Agriculture, Czech Republic, project R01116.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Babb S., Muehlbauer G.J. Genetic and morphological characterization of the barley *uniculm2* (*cul2*) mutant. Theor. Appl. Genet. 2003;106: 846-857. DOI 10.1007/s00122-002-1104-0.

Bartlett M.E., Thompson B. Meristem identity and phyllotaxis in inflorescence development. Front. Plant Sci. 2014;5:508. DOI 10.3389/fpls.2014.00508.

Boden S.A., Cavanagh C., Cullis B.R., Ramm K., Greenwood J., Finnegan J.E. Trevaskis B., Swain S.M. Ppd-1 is a key regulator of inflorescence architecture and paired spikelet development in wheat. Nat. Plants. 2015;26(1):14016. DOI 10.1038/nplants.2014.16.

Bonnett O.T. The development of the wheat spike. J. Agric. Res. 1936; 53:445-451.

Dobrovol'skaia O.B., Badaeva E.D., Adonina I.G., Popova O.M., Krasnikov A.A., Laĭkova L.I. Investigation of morphogenesis of inflorescence and determination of the nature of inheritance of "supernumerary spikelets" trait of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) mutant line. Ontogenez = Ontogenesis (Moscow). 2014a;45(6):434-441. PMID:25739301 (in Russian)

Dobrovol'skaya O.B., Martinek P., Adonina I.G., Badaeva E.D., Orlov Yu.L., Salina E.A., Laikova L.I. Effect of rearrangements of homoeologous group 2 chromosomes of bread wheat on spike morphology. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2014b;18(4/1):672-680 (in Russian)

Dobrovolskaya O., Martinek P., Voylokov A.V., Korzun V., Röder M.S., Börner A. Microsatellite mapping of genes that determine supernumerary spikelets in wheat (*T. aestivum*) and rye (*S. cereale*). Theor. Appl. Genet. 2009;119:867-874. DOI 10.1007/s00122-009-1095-1.

Dobrovolskaya O., Pont C., Sibout R., Martinek P., Badaeva E., Murat F., Chosson A., Watanabe N., Prat E., Gautier N., Gautier V., Poncet Ch., Orlov Yu., Krasnikov A.A., Bergès H., Salina E., Laikova L., Salse J. *FRIZZY PANICLE* drives supernumerary spikelets in bread wheat (*T. aestivum* L.). Plant Physiol. 2015;167:189-199. DOI 10.1104/pp.114.250043.

Dorofeev V.F., Korovina O.N. (Eds). Kulturnaya flora SSSR [Cultivated flora of the USSR]. T. 1. Pshenitsa [V. 1. Wheat]. Leningrad, Kolos Publ., 1979. (in Russian)

Ikeda K., Nagasawa N., Nagato Y. Aberrant panicle organization 1 temporally regulates meristem identity in rice. Dev. Biol. 2005;282:349-360. DOI 10.1016/j.ydbio.2005.03.016.

Kellogg E.A., Camara P.E., Rudall P.J., Ladd P., Malcomber S.T., Whipple C.J., Doust N.A. Early inflorescence development in the grasses (Poaceae). Front. Plant Sci. 2013;4:250. DOI 10.3389/fpls.2013.00250.

Laudencia-Chingcuanco D., Hake S. The *indeterminate floralapex1* gene regulates meristem determinacy and identity in the maize inflorescence. Development. 2002;129:2629-2638.

Malcomber S.T., Preston J.C., Reinheimer R., Kossuth J., Kellogg E.A. Developmental gene evolution and the origin of grass inflorescence diversity. Eds. P.S. Soltis, J. Leebens-Mack. Developmental Genetics of the Flower, 2006. Advances in Botanical Research. 2006;44:423-479. http://dx.doi.org/10.1016/S0065-2296(06)44011-8.

Martinek P., Bednar J. Gene resources with non-standard spike morphology in wheat. Proc. Int. 9th Wheat Genet. Symp., Saskatoon, Canada. 2–7 Aug. 1998. Ed. A. Slinkard. Univ. Saskatchewan. Saskatoon, 1998;286-288.

Martinek P., Bednar J. Changes of spike morphology (multirow spike – MRS, long glumes –LG) in wheat (*Triticum aestivum* L.) and their importance for breeding. Proc. Int. Conf. "Genetic Collections, Isogenic and Alloplasmic Lines". Novosibirsk, 2001;192-194.

Rokitsky P.F. Biologicheskaya statistika [Biological statistics]. Minsk: Vysshaya Shkola Publ., 1973. (in Russian)

Shitsukawa N., Kinjo H., Takumi S., Murai K. Heterochronic development of the floret meristem determines grain number per spikelet in diploid, tetraploid and hexaploid wheats. Ann. Bot. 2009;104:243-251. DOI 10.1093/aob/mcp129.

Smoček J. Screwedness of the spike rachis – A new phenomenon in wheat spike morphology. Rostlinná Vỳroba. 1991;37:507-514.

Thompson B.E., Bartling L., Whipple C., Hall D.H., Sakai H., Schmidt R., Hake S. The bearded-ear encodes a MADS box transcription factor critical for maize floral development. Plant Cell. 2009;21:2578-2590. DOI 10.1105/tpc.109. 067751.

Weigel D., Alvarez J., Smyth D.R., Yanofsky M.F., Meyerowitz E.M. *LEAFY* controls floral meristem identity in *Arabidopsis*. Cell. 1992; 69:843-859. DOI 10.1016/0092-8674(92)90295-N.

Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):227-233
DOI 10.18699/VJ17.241

Полимерное взаимодействие генов *SHY2* и *MSG1*, *NPH4* и *IAR2* при наследовании признаков корневой системы *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

С.Г. Хаблак

Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева, Харьков, Украина

Регуляция ветвления корней – важный адаптивный механизм, обеспечивающий приспособление растений к среде обитания корней. Выяснение генетических механизмов, вызывающих у растений увеличение степени ветвления корней, имеет существенное значение в повышении отзывчивости сельскохозяйственных культур на элементы питания. Целью исследования было изучение взаимодействия генов *SHY2* и *MSG1*, *NPH4* и *IAR2* при наследовании признаков корневой системы *Arabidopsis thaliana*. При скрещивании растений мутантных линий *shy2-2*×*msg1-2*, *nph4-1*×*iar2-1* в F_2 получено расщепление, позволяющее предполагать полимерное взаимодействие генов *SHY2* и *MSG1*, *NPH4* и *IAR2*. Расщепление по фенотипу в поколении F_2 происходит в соотношении 15:1. Описанные в работе результаты исследований представляют интерес для практического использования хозяйственно ценного признака «ветвление корней» в селекции растений для создания сортов и гибридов с заданными свойствами минерального питания. В данной работе показано, что способность растений увеличивать степень ветвления корней зависит от отдельных генов и может наследоваться по типу полимерного взаимодействия генов. Зная полимерный характер наследования в корневой системе длины боковых корней при взаимодействии генов, можно комбинировать гены путем скрещивания и увеличивать степень ветвления корней у культурных растений при создании сортов и гибридов, более отзывчивых на элементы питания.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.; корневая система; ген; мутация; взаимодействие генов.

Polymer interaction of the genes *SHY2* and *MSG1*, *NPH4* and *IAR2* in the inheritance of the *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. root system

S.G. Hablak

V.V. Dokuchaev Kharkov National Agrarian University, Kharkov, Ukraine

Roots branching regulation is an important adaptive mechanism for the adaptation of plants to root environments. Elucidation of the genetic mechanisms involved in increase in the degree of plant root branching is essential in improving the responsiveness of crops to supply elements. The aim was to study the interaction of the genes *SHY2* and *MSG1*, *NPH4* and *IAR2* as attributes of the root system of *A. thaliana* are inherited. By crossing plants of the mutant lines *shy2-2*×*msg1-2*, *nph4-1*×*iar2-1*, a segregation in F_2 was observed, suggesting an interaction between the polymer *SHY2* and *MSG1*, *NPH4* and *IAR2* genes. The segregation ratio of the phenotypes in F_2 is 15:1. The results presented are of interest for practical use of the economically valuable trait «branching roots» in plant breeding to create varieties and hybrids with the desired properties of mineral nutrition. Our data indicate that the ability of plant roots to increase the degree of branching depends on individual genes and can be inherited through polymer gene interactions. Knowing the polymeric nature of inheritance in the root system, the length of lateral roots in the interaction of genes can be combined by crossing genes and increase the degree of branching of the roots from cultivated plants to create agrochemically effective varieties and hybrids.

Key words: *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.; root system; gene; mutation; gene interaction.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:
Хаблак С.Г. Полимерное взаимодействие генов *SHY2* и *MSG1*, *NPH4* и *IAR2* при наследовании признаков корневой системы *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017; 21(2):227-233. DOI 10.18699/VJ17.241

HOW TO CITE THIS ARTICLE:
Hablak S.G. Polymer interaction of the genes *SHY2* and *MSG1*, *NPH4* and *IAR2* in the inheritance of the *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. root system. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(2):227-233. DOI 10.18699/VJ17.241

Received 16.06.2016
Accepted for publication 30.06.2016
© AUTHOR, 2017

e-mail: serhab211981@yandex.ua

Корень – вегетативный орган растения, служащий для поглощения из почвы воды и минеральных веществ и закрепления растения в почве. Одно из общих биологических свойств корня – ветвление, приводящее к кардинальному увеличению поглощающей поверхности корня (Тарановская, 1957). Регуляция ветвления корней является важным адаптивным механизмом, обеспечивающим приспособление растений к среде обитания корней, что позволяет им реагировать на изменяющиеся условия окружающей среды и выживать в различных экологических нишах (Robinson, 1996). Выяснение генетических механизмов, вызывающих у растений увеличение степени ветвления корней, имеет существенное значение в повышении отзывчивости сельскохозяйственных культур на элементы питания и к их адаптации к стрессам минерального питания.

Вопросы селекции растений по корням не являются новыми. Представления об использовании мощности, характера развития корневой системы и других ее признаков при подборе растений и других смежных вопросах (генетики, физиологии, агрохимии) были высказаны еще в начале XIX в. Однако эти положения остались почти не замеченными селекционерами, и в настоящее время такая селекция практически не ведется. Это связано с определенными техническими трудностями при изучении корневых систем растений (Городний и др., 1975).

Для изучения генетики корневой системы, генетического контроля поглощения и усвоения элементов питания ученые рекомендуют использовать в качестве объекта для исследований модельное растение *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Braaksma et al., 1975; Doddema et al., 1978). Исследования на модельных объектах могут быть опережающими – они позволяют разрабатывать новые генетические подходы, которые в дальнейшем могут быть использованы на других объектах.

К настоящему времени молекулярно-генетические и физиологические исследования мутантов *A. thaliana* позволили изолировать ряд генов, принимающих участие в развитии корневой системы. К ним относятся гены *SHY2* (*SHORT HYPOCOTIL2*), *MSG1* (*MASSUGU1*), *NPH4* (*NON-PHOTOTROPHIC HYPOCOTYL4*) и *IAR2* (*IAA-ALANINE RESISTANT2*). Эти гены кодируют транскрипционные факторы, участвующие в ответе на ауксин (Abel et al., 1995; Harper et al., 2000; Tian et al., 2002; Wilmoth et al., 2005).

Ген *NPH4*/*ARF7* входит в состав семейства *ARF* (*AUXIN RESPONSE FACTOR*) генов. *ARF* семейство транскрипционных факторов участвует в передаче ауксинового сигнала, эмбриогенезе, регуляции формирования цветков и сосудов. ARF-белки специфически связываются с TGTCTC-последовательностями ауксин-регулируемых генов и функционируют вместе с репрессором этих генов *AUX/IAA* (*AUXIN/INDOLE-3-ACETIC ACID*). Связывание ARF-факторов с регуляторными районами генов-мишеней обеспечивает быстрое (в течение десятков минут) изменение экспрессии ауксин-регулируемых генов (Wilmoth et al., 2005).

Гены *SHY2*/*IAA3*, *MSG1*/*IAA19* и *IAR2*/*IAA28* входят в состав семейства *AUX/IAA* генов. Белки, кодируемые генами из семейства *AUX/IAA*, имеют молекулярную массу 20–36 кДа, локализованы в ядре и являются короткоживущими. Они характеризуются наличием четырех консервативных доменов – I, II, III и IV. Домены II и III имеют функциональное значение, отвечают за убиквитинизацию белков (домен II) и димеризацию/мультимеризацию (домен III), а также взаимодействие с белками ARF. Значение доменов I и IV пока не установлено. Предполагается, что домен I может участвовать в гомодимеризации белков AUX/IAA. Белки AUX/IAA считаются негативными регуляторами ауксинзависимой экспрессии генов благодаря своей способности к связыванию с белками ARF (Abel et al., 1995).

В основе регуляторного действия ауксина лежит регуляция им экспрессии сотен генов, определяющих все важнейшие стороны жизнедеятельности растений. У *A. thaliana* ауксин специфически взаимодействует с TIR1-белком и структурно родственными ему AFB-белками олигомерного SCF-комплекса, в состав которого наряду с TIR1/AFB-белком входят еще три белка – CUL1, ASK1 и RBX1. SCF-комплекс наделен убиквитинлигазной активностью. Он модифицирует AUX/IAA-белки, относящиеся к семейству репрессоров транскрипции, которые блокируют экспрессию множества генов, контролируемых ауксином. Связываясь с TIR1-белком, ауксин повышает аффинность активированного им SCF-комплекса к AUX/IAA-белку, что приводит к запуску реакции модификации AUX/IAA-белка убиквитином, вследствие чего происходит его ускоренная деградация в 26S-протеасоме. Таким образом, ауксин вызывает разрушение репрессора транскрипции и стимулирует экспрессию зависимых от него генов (Walker, Estelle, 1998; Шпаков, 2009).

Известно, что ауксин участвует в различных биохимических и физиологических процессах растений, в том числе регулирует корнеобразование, рост корней в длину и стимулирует их ветвление (Blakesley et al., 1991). Отбор мутантов, влияющих на метаболизм или чувствительность к ауксину, обычно основан на фенотипических изменениях, вызванных применением данного фитогормона. Эти изменения захватывают такие процессы, как рост растений, образование и утолщение корней, явления фото- и геотропизма, апикальное доминирование, цветение, созревание плодов, опадение листьев, завязей и плодов (Walker, Estelle, 1998).

В последние годы у *A. thaliana* получены мутанты, у которых нарушен метаболизм или чувствительность к ауксину (Цыганкова и др., 2005). К ним относятся мутантные растения *shy2-2*, *msg1-2*, *nph4-1* и *iar2-1*. Мутации *shy2-2*, *msg1-2*, *nph4-1* и *iar2-1* в генах *SHY2*, *MSG1*, *NPH4* и *IAR2* наряду с другими нарушениями вызывают у растений уменьшение ветвления корней (Хаблак, Абдуллаева, 2012).

В то же время информация о наследовании признаков корневой системы *A. thaliana* при взаимодействии генов *SHY2* и *MSG1*, *NPH4* и *IAR2* отсутствует, что и послужило поводом для наших исследований.

Материалы и методы

Исследовали растения *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. экотипа (расы) Columbia (Col-0) и мутантных линий *msg1-2/iaa19* (*massugu1-2*/*indole-3-acetic acid19*), *shy2-2/iaa3* (*short hypocotil2-2/indole-3-acetic acid3*), *nph4-1* (*non-*

phototrophic hypocotyl 4-1), *iar2-1* (*iaa-alanine resistant 2-1*). Семена мутантных линий были получены из Ноттингемского центра образцов арабидопсиса (Nottingham Arabidopsis Stock Centre (NASC), Великобритания) и Центра биологических ресурсов Arabidopsis при университете штата Огайо (Arabidopsis Biological Resource Centre, США).

Мутантная линия (мутация): *short hypocotil2-2* (*shy2-2*). Ген *SHORT HYPOCOTIL2/INDOLE-3-ACETIC ACID3* (*SHY2/IAA3*). Продукт гена – транскрипционный фактор SHY2/IAA3. Фенотип – увеличенные семядоли, короткий гипокотиль; взрослые растения с немного загнутыми вверх листьями, короткие корни (Seed List, 1994).

Мутантная линия (мутация): *non-phototrophic hypocotyl4-1* (*nph4-1*). Ген *NON-PHOTOTROPHIC HYPOCOTYL4/AUXIN RESPONSE FACTOR7* (*NPH4/ARF7*). Продукт гена – транскрипционный фактор NPH4/ARF7. Фенотип – образуется меньше боковых корней по сравнению с диким типом; при выращивании растений вертикально в условиях низкой освещенности ориентация роста гипокотиля нарушается по сравнению с диким типом (Seed List, 1994).

Мутантная линия (мутация): *massugu1-2/indole-3-acetic acid19* (*msg1-2*). Ген *MASSUGU1/INDOLE-3-ACETIC ACID19* (*MSG1/IAA19*). Продукт гена – транскрипционный фактор MSG1/IAA19. Фенотип – рост корней значительно снижен (примерно на две трети дикого типа) (Seed List, 1994).

Мутантная линия (мутация): *iaa-alanine resistant2-1/indole-3-acetic acid28* (*iar2-1*). Ген *IAA-ALANINE RESISTANT2/INDOLE-3-ACETIC ACID28* (*IAR2/IAA28*). Продукт гена – транскрипционный фактор IAR2/IAA28. Фенотип – образуется меньше боковых корней по сравнению с диким типом (Seed List, 1994).

Растения выращивали в лаборатории в асептической пробирочной культуре на агаризованной питательной среде Кнопа, обогащенной микроэлементами (Рубина и др., 1978). Семена к посеву готовили путем яровизации в течение 5 сут при температуре 4–6 °С и последующего односуточного проращивания при комнатной температуре. Пробирки для предохранения от нагревания и попадания света на корни растений обвертывали двумя слоями бумаги. Растения культивировали при температуре 18–20 °С, освещенность круглосуточная в пределах 4000–7000 лк.

Учет количества корней и их длины в корневых системах у растений экотипа Col-O и исследуемых мутантных линий осуществляли в фазе бутонизации. Длину корней измеряли с помощью электронного штангенциркуля типа ШЦЦ-1. Разграничение придаточных корней от боковых корней главного корня проводили по характеру эпидермиса (с устьицами на гипокотиле и без устьиц на главном корне).

Кастрацию и принудительную гибридизацию делали под микроскопом типа МБС-9. Генетический анализ наследования признаков корневой системы у растений проводили в F_1 и F_2. Объем выборки во втором поколении составлял 184 и 186 растений. Математическую обработку результатов исследований осуществляли по Г.Ф. Лакину (1990), а также по В. Боровикову (2003) с использованием компьютерной программы Statistica.

Результаты

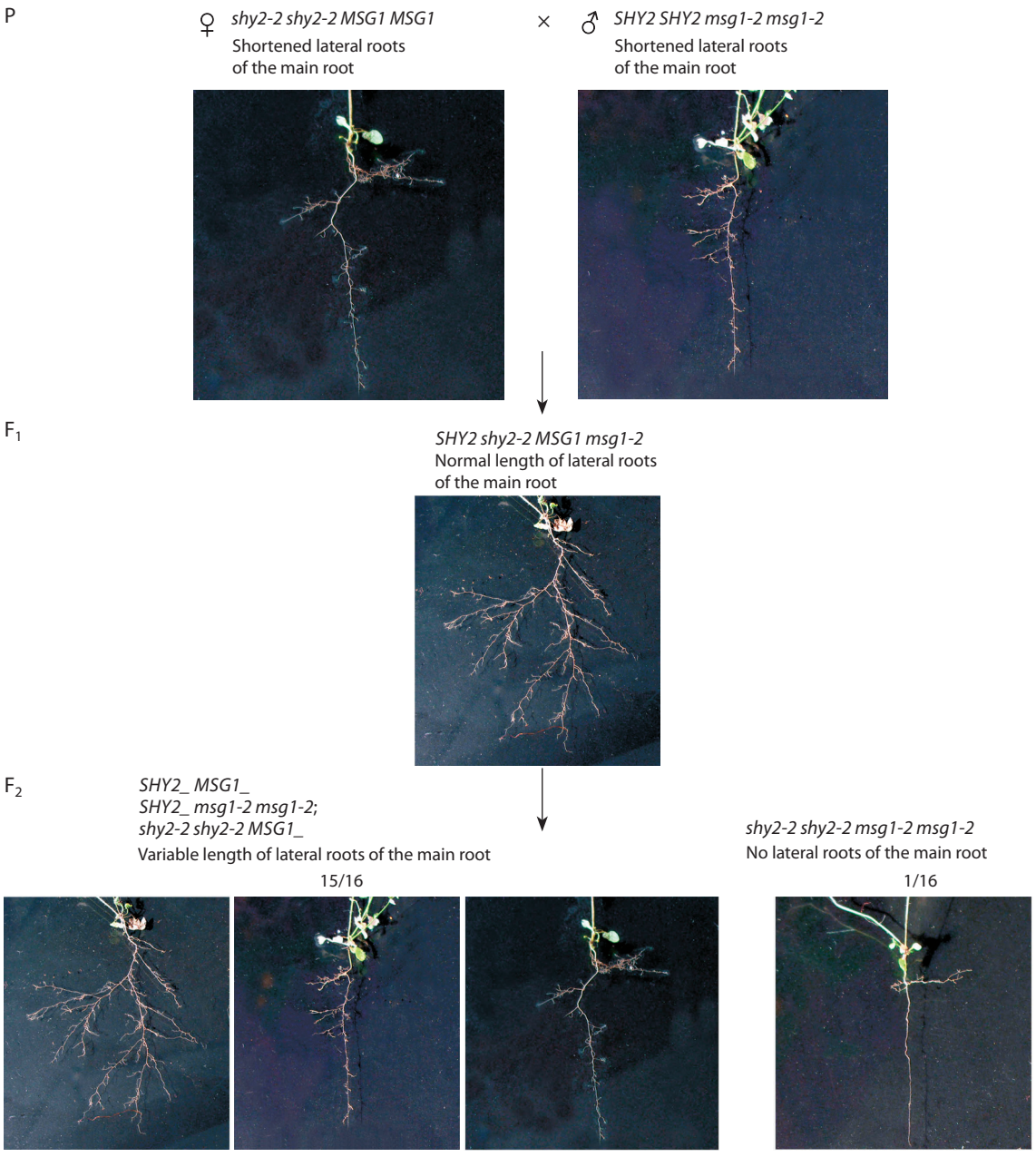
В связи с неизученностью вопроса о взаимодействии генов *SHY2* и *MSG1*, *NPH4* и *IAR2* при наследовании признаков корневой системы были проведены скрещивания между растениями мутантных линий арабидопсиса (*shy2-2* × *msg1-2*, *nph4-1* × *iar2-1*). У арабидопсиса растения некоторых мутантных форм – *msg1-2*, *shy2-2* и других – имеют уменьшенную степень ветвления корней, которая определяется несколькими различными генами. Так, например, нормальная длина боковых корней главного корня определяется доминантными генами *SHY2* и *MSG1*, а сниженная – рецессивными *shy2-2* и *msg1-2* (табл. 1, рисунок).

При скрещивании двух растений мутантных линий *shy2-2* и *msg1-2*, обладающих уменьшенной по сравнению с диким типом величиной боковых корней разных порядков ветвления главного корня, все гибриды F_1 (*SHY2 shy2-2 MSG1 msg1-2*) имеют нормальную длину боковых корней. От самоопыления таких форм в F_2 15/16 всех растений оказываются с варьирующей длиной боковых корней главного корня и 1/16 – без боковых корней (табл. 2).

У гибридов второго поколения самую большую длину боковых корней обусловливают два доминантных аллеля,

Table 1. Mean values of biometric indices of root systems in ecotype Col-O, parental forms (*shy2-2* and *msg1-2*), and hybrids F_1 and F_2 in the bud stage (30 days after germination)

Line	Root type	
	Lateral roots of the main root	
	number of roots	root length, mm
WT (Col-0)	29.2 ± 0.6	12.3 ± 0.4
Maternal form *shy2-2*	20.6 ± 0.4	7.4 ± 0.2
Paternal form *msg1-2*	18.1 ± 0.4	6.5 ± 0.2
Hybrids F_1	30.2 ± 0.8	13.1 ± 0.5
Hybrids F_2		
*SHY2_MSG1_; SHY2_msg1-2 msg1-2; shy2-2 shy2-2 MSG1_*	28.6 ± 0.7	11.5 ± 0.4
shy2-2 shy2-2 msg1-2 msg1-2	0	0
LSD_{05} (least significant difference)	3.5	2.4



Inheritance of the length of lateral roots of the main root in *A. thaliana* with polymeric interaction of two pairs of genes: *SHY2* and *MSG1* (segregation 15 : 1).

SHY2, normal lateral root length; *shy2-2*, length of shortened lateral roots; *MSG1*, normal lateral root length; *msg1-2*, length of shortened lateral roots; P, parental forms.

Table 2. Segregation for the *SHY2* and *MSG1* genes in the F_2 generation

Index	Classes of plants		
	SHY2 _ MSG1 _; *SHY2_ msg1-2 msg1-2*; *shy2-2 shy2-2 MSG1_*	*shy2-2 shy2-2 msg1-2 msg1-2*	Total
Experimental data, *f*	171	15	186
Predicted data, f^1	174	12	186
Deviation of results from the prediction, *d*	–3	3	
Squared deviation, d^2	9	9	
χ^2	0.05	0.75	0.8

Table 3. Mean values of biometric indices of root systems in Col-O, parental forms (*nph4-1* and *iar2-1*), and hybrids F_1 and F_2 in the bud stage (30 days after germination)

Line	Root type	
	Lateral roots of the main root	
	number of roots	root length, mm
WT (Col-0)	29.8 ± 1.2	11.6 ± 0.7
Parent form *nph4-1*	12.5 ± 0.6	6.2 ± 0.4
Paternal form *iar2-1*	14.2 ± 0.8	5.1 ± 0.3
Hybrids F_1	29.3 ± 1.1	12.2 ± 0.8
Hybrids F_2		
*NPH4_ IAR2_*; *NPH4_ iar2-1 iar2-1*; *nph4-1 nph4-1 IAR2_*	28.2 ± 1.3	11.1 ± 0.6
nph4-1 nph4-1 iar2-1 iar2-1	0	0
LSD_{05}	3.1	2.6

Table 4. Segregation for the *NPH4* and *IAR2* genes in F_2

Index	Genotypes		
	NPH4_ IAR2 _; *NPH4_ iar2-1 iar2-1*; *nph4-1 nph4-1 IAR2_*	*nph4-1 nph4-1 iar2-1 iar2-1*	Total
Experimental data, *f*	172	12	184
Predicted data, f^1	173	11	184
Deviation of experiments from prediction, *d*	–1	1	
Squared deviation, d^2	1	1	
χ^2	0.005	0.09	0.095

*SHY*2 и *MSG1*, в гомо- или гетерозиготном состоянии, тогда как объединение рецессивных аллелей *shy2-2* и *msg1-2* в гомозиготном состоянии определяет полное их отсутствие. При этом величина боковых корней зависит от числа доминантных и рецессивных генов в генотипе. Наличие доминантных аллелей двух разных генов, *SHY*2 и *MSG1*, в гомо- или гетерозиготном состоянии (*SHY*2_ *MSG1_*) обусловливает у 9/16 растений максимальную длину боковых корней (14.6 мм). Присутствие только одного рецессивного аллеля, *msg1-2*, в гомозиготном состоянии (*SHY*2_ *msg1-2 msg1*-2) или только другого рецессивного аллеля, *shy2-2*, также в гомозиготном состоянии (*shy2-2 shy2-2 MSG1_*) определяет у 6/16 растений различную промежуточную величину боковых корней (8.4 мм). Гомозиготное состояние по обоим рецессивным генам, *shy2*-2 *shy2-2 msg1-2 msg1-2*, приводит к редукции у 1/16 растений боковых корней. Эти результаты можно объяснить полимерным действием двух разных генов, *SHY*2 и *MSG1*, на развитие признака «длина боковых корней главного корня».

Подобным образом происходит наследование признаков корневой системы у *A. thaliana* при следующем скрещивании растений мутантных линий *nph4-1* × *iar2-1*. Развитие нормальной длины боковых корней главного корня у *A. thaliana* определяется несколькими доминантными генами – *NPH4*, *IAR2* и другими, а сниженной – рецессивными – *nph4-1*, *iar2-1* и т. д. При скрещивании двух растений мутантных линий *nph4-1* и *iar2-1* с уменьшенной степенью ветвления корней получаются гибриды F_1 с нормальной длиной боковых корней разных порядков ветвления (табл. 3). Во втором поколении такого скрещивания 15/16 всех растений оказываются с варьирующей длиной боковых корней и 1/16 – без боковых корней (табл. 4). Объяснить этот факт можно полимерным эффектом генов *NPH4* и *IAR2* на формирование признака «длина боковых корней».

Обсуждение

Развитие корневой системы у растений находится под сложным генетическим контролем. В настоящее время проблема генетического контроля ветвления корней у растений изучена слабо.

В последние годы благодаря стремительно развивающимся исследованиям молекулярных механизмов регуляции экспрессии генов становится все более ясным, что проблема генетики ветвления корней у растений тесно связана с сигнальной системой клеток (Хаблак, Парий, 2013). В клетках растений были найдены сигнальные пути, которые с помощью специальных белков-рецепторов, расположенных в плазмалемме, воспринимают сигнальные импульсы, преобразуют, усиливают и передают их в геном клетки, вызывая репрограммирование экспрессии генов и изменения в обмене веществ (в том числе кардинальные), связанные с включением ранее «молчавших» и выключением некоторых активных генов (Тарчевский, 2002).

В последнее десятилетие были получены важные достижения в изучении генома растений, выделения генов, ответственных за определенные этапы роста, развития, старения растений, ответ на стрессовые воздействия и патогены. Выделены гены, контролирующие регуляторные системы растений, обусловливающие включение генетических программ (Кулаева, 2000).

В настоящее время интенсивно исследуются МАР-киназная, аденилатциказная, фосфатидатная, кальциевая, липоксигеназная, НАДФН-оксидазная, NO-синтазная и протонная сигнальные системы и их роль в онтогенетическом развитии растений (Тарчевский, 2002).

За последние годы у *A. thaliana* достигнут существенный успех в идентификации генов, контролирующих путь передачи сигнала в ядро клетки и вызывающих развитие признака или ответной реакции. В геноме *A. thaliana* клонированы и в общих чертах сравнительно изучены гены, ответственные за восприятие и передачу сигнала внутрь клетки и обеспечивающие реализацию ответа на сигнал (Новикова и др., 2009; Романов, 2009).

Непосредственный контроль над развитием органов и тканей растений осуществляется транскрипционными факторами, которые после перемещения в ядро клетки регулируют транскрипцию, специфически взаимодействуя с ДНК либо с другими белками, которые могут образовывать комплекс белок–ДНК. В настоящее время у *A. thaliana* установлено более 1800 генов, кодирующих белки-регуляторы транскрипции, которые обычно классифицируют по строению ДНК-связывающих доменов (Медведев, Шарова, 2010). В частности, к ним относятся гены *SHY2/IAA3*, *NPH4*/*ARF7*, *MSG1/IAA19* и *IAR2/IAA28*, которые принадлежат к семействам ауксин-индуцируемых генов *AUX/IAA* (*AUXIN/INDOLE-3-ACETIC ACID*) и *AUXIN RESPONSE FACTOR* (*ARF*) (Abel et al., 1995; Wilmoth et al., 2005).

В последнее время у *A. thaliana* проводятся исследования по изучению влияния ауксин-индуцированных генов на ветвление корней. Изучены особенности строения корневых систем у растений мутантных линий *A. thaliana* с нарушением формирования боковых корней. По характеру влияния на степень разветвления корней мутации, затрагивающие метаболизм или чувствительность к ауксину, разделены на две группы: уменьшающие порядок ветвления корней и повышающие степень ветвления корней. В первую группу входят мутации *shy2-2/iaa3*, *iar2-1/iaa28*, *msg1-2/iaa19*, *axr1-3*, *axr4-1*, *axr3-1/iaa17*, *axr2/iaa7*, *tir1-1*, *alf3-1*, *alf4-1*, *aux1-7*, *slr-1/iaa14*, *nph4-1/arf7*, *arf19-1*, *gpa1-3*, *big*, ко второй группе относятся *sur1-1*, *sur-2*, *axr2-1/iaa7*, *agb1-2*. Установлено, что мутации в генах *SLR1/IAA14*, *ALF4*, *ALF3*, *GPA1*, *AXR3/IAA17* приводят к изменению типа корневой системы (Хаблак, Абдуллаева, 2012).

В данном исследовании показано, что наследование признака «длина корней» при взаимодействии генов *SHY2* и *MSG1*, *NPH4* и *IAR2* происходит по типу полимерного действия генов. При этом расщепление по фенотипу в поколении F_2 идет в соотношении 15 : 1.

Условно различают некумулятивную и кумулятивную полимерию. Некумулятивная полимерия характеризуется тем, что для полной выраженности признака достаточно доминантного аллеля одного из полимерных генов. Расщепление в F_2 по фенотипу при дигибридном скрещивании происходит в соотношении 15 : 1. При кумулятивной полимерии степень выраженности признака зависит от числа доминантных аллелей как одного и того же, так и разных полимерных генов. Расщепление в F_2 по фенотипу при дигибридном скрещивании происходит в соотношении 1 : 4 : 6 : 4 : 1. Обычно количественные признаки наследуются по типу кумулятивной полимерии (Глазко, Глазко, 1999).

Как правило, деление признаков на качественные и количественные носит условный характер. Любой количественный признак можно свести к качественному признаку. Тогда взаимодействие генов при наследовании такого признака происходит по некумулятивной полимерии в соотношении 15 : 1. Это происходит в исследовании при скрещивании растений мутантных линий *shy2-2* × *msg1-2*, *nph4-1* × *iar2-1*.

Полученные результаты представляют интерес для практического использования хозяйственно ценного признака «ветвление корней», который обеспечивает пластичность корневой системы в ответ на изменение условий окружающей среды, в селекции растений для создания сортов и гибридов с заданными свойствами минерального питания. Наши данные свидетельствуют о том, что способность растений увеличивать степень ветвления корней зависит от отдельных генов и может наследоваться по типу полимерного взаимодействия генов. Зная закономерности наследования в корневой системе длины боковых корней, можно путем скрещивания при правильном подборе исходных родительских пар получать растения с положительным трансгрессивным сочетанием в одном генотипе полимерных генов аддитивного действия, определяющих более сильную степень ветвления корней по сравнению с обеими родительскими формами. Эти растения будут ценным материалом в селекционных программах по созданию агрохимически эффективных сортов и гибридов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Abel S., Nguyen D., Theologis A. The PS-lAA415-like family of early auxin-inducible mRNAs in *Arabidopsis thaliana*. J. Mo1. Biol. 1995;251(2):533-549.

Blakesley D., Weston G.D., Hall J.F. The role of endogenous auxin in root initiation. Plant Growth Regul. 1991;10(1):341-353.

Borovikov V. STATISTICA. Iskusstvo analiza dannykh na komp'yutere: dlya professionalov [STATISTICA. Art of the computer analysis of data: for experts]. S.-Petersburg, Piter Publ., 2003. (in Russian)

Braaksma F.J., Feenstra W.J. Nitrate reduction in *Arabidopsis thaliana*. Arabid. Inf. Serv. 1975;12(1):16-17.

Doddema H., Hofstra J.J., Feenstra W.J. Uptake of nitrate by mutants of *Arabidopsis thaliana*, disturbed in uptake or reduction of nitrate. Physiol. Plantarum. 1978;43(4):343-350.

Glazko V.I., Glazko G.V. Slovar' terminov po prikladnoy genetike i DNK tekhnologiyam [Glossary of terms in applied genetics and DNA technology]. Kiev, Nora-Print Publ., 1999. (in Russian)

Gorodniy N.G., Ustimenko A.S., Danilchuk P.V. Kornevye sistemy i produktivnost' sel'skokhozyaystvennykh rasteniy [The root systems and productivity of agricultural crops]. Urozhay Publ., 1975. (in Russian)

Harper R.M., Stowe-Evans E.L., Luesse D.R., Muto H., Tatematsu K., Watahiki M.K., Yamamoto K., Liscum E. The *NPH4* locus encodes the auxin response factor *ARF7*, a conditional regulator of differential growth in aerial *Arabidopsis* tissue. Plant Cell. 2000;12(4): 757-770.

Khablak S.G., Abdullaeva J.A. Effect of auxin-induced genes on root branching in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Vestn. Khar'kovskogo natsional'nogo agrarnogo universiteta. Ser. Biologiya = Bulletin of the Kharkov National Agrarian University. Biology Series. 2012;1(25):57-63. (in Russian)

Khablak S.G., Pariy F.N. The relationship between the signaling system regulating plant development and gene interaction in the inheritance of root system traits in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Vestn. Khar'kovskogo natsional'nogo agrarnogo universiteta. Ser. Biologiya = Bulletin of the Kharkov National Agrarian University. Biology Series. 2013;3(30):83-89. (in Russian)

Kulaeva O.N. Dwarf mutants and their role in the "green revolution". Soros Educational Journal. 2000;8:18-23. (in Russian)

Lakin G.F. Biometriya [Biometrics]. Moscow, 1990. (in Russian)

Medvedev S.S., Sharova E.I. Genetic and epigenetic regulation of plant organisms (review). J. Siberian Federal University Biology. 2010;2(3):109-129. (in Russian)

Novikova G.V., Stepanchenko N.S., Nosov A.V., Moshkov I.E. At the beginning: the perception of ABA and the transduction of its signal in plants. Fiziologiya rasteniy = Plant Physiology (Moscow). 2009;56(6):806-823. (in Russian)

Robinson D. Resource capture by localized root proliferation: Why do plants bother? Ann. Bot. 1996;77(2):179-185.

Romanov G.A. How cytokinins act on the cell. Fiziologiya rasteniy = Plant Physiology (Moscow). 2009;56(2):295-319. (in Russian)

Rubina B.A., Chernavina I.A., Potapov N.G. Bol'shoy praktikum po fiziologii rasteniy [Major training course on plant physiology]. Moscow, 1978. (in Russian)

Seed List. The Nottingham Arabidopsis Stock Centre. Nottingham: The University of Nottingham, 1994.

Shpakov A.O. Chemosignaling systems in plants. Tsitologiya = Cytology. 2009;51(9):721-733. (in Russian)

Taranovskaya M.G. Metody izucheniya kornevykh sistem [Methods of studying root systems]. Moscow, Selkhozizdat Publ., 1957. (in Russian)

Tarchevskiy I.A. Signal'nye sistemy kletok rasteniy [Signalling systems of plant cells]. Moscow, Nauka Publ., 2002. (in Russian)

Tian Q., Uhlir N.J., Reed J.W. *Arabidopsis SHY2/IAA3* inhibits auxin-regulated gene expression. Plant Cell. 2002;14(2):301-319.

Tsygankova V.A., Galkina L.A., Musatenko L.I., Sytnik K.M. Genetic and epigenetic control of plant growth and development. The genes of the biosynthesis of auxins and auxin-regulated genes that control cell division and elongation of plant cells. Biopolimery i kletka = Biopolymers and the Cell. 2005;21(2):107-133. (in Russian)

Walker L., Estelle M. Molecular mechanisms of auxin action. Plant Biol. 1998;1(2):434-439.

Wilmoth J.C., Wang S., Tiwari S.B. *NPH4*/*ARF7* and *ARF19* promote leaf expansion and auxin-induced lateral root formation. Plant J. 2005;43(1):118-130.

Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):234-240
DOI 10.18699/VJ17.242

Гомеобоксные гены факторов транскрипции WOX в паразитическом растении *Monotropa hypopitys* на стадии цветения

А.В. Щенникова ✉, О.А. Шульга, Е.З. Кочиева, А.В. Белецкий, М.А. Филюшин, Н.В. Равин, К.Г. Скрябин

Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр "Фундаментальные основы биотехнологии" Российской академии наук», Институт биоинженерии, Москва, Россия

Формирование и поддержание популяций стволовых клеток растения контролируются гомеодомен-содержащими факторами транскрипции семейства WOX. Эволюция гомеобоксных генов, кодирующих данные белки, считается одной из главных причин многообразия форм цветка и морфологии растения в целом. Механизм регуляции ниш стволовых клеток в апикальных меристемах признан консервативным для цветковых растений разных видов и наиболее подробно исследован на модели *Arabidopsis thaliana*. Морфологическое разнообразие покрытосеменных подразумевает наличие особенностей этого механизма, присущих отдельным видам, при сохранении основных сигнальных путей. Уникальный представитель покрытосеменных бесхлорофилльный микогетеротроф подъельник *Monotropa hypopitys* получает питательные вещества от корней деревьев через микоризный симбиоз. В индуктивных условиях адвентивные репродуктивные почки на корнях *M. hypopitys* выпускают цветонос с прицветниками и соцветием на конце. *M. hypopitys* так же, как и другие растения, формирует меристемы соцветия, цветка и корня, вероятно, используя консервативные пути регуляции ниш стволовых клеток. Изучение гомеобоксных генов такого растения расширит знания о важных эволюционных факторах транскрипции WOX и позволит лучше представлять механизмы контроля стволовых клеток в микогетеротрофных растениях. В данной работе проведен анализ транскриптомов корня, прицветников и цветков двух индивидуальных образцов подъельника, собранных на стадии цветения. Идентифицированы мРНК пяти генов семейства WOX, охарактеризованы их структура, филогения, паттерн экспрессии, а также возможные функции. Совокупность полученных и литературных данных позволила сделать предположения о функциональной роли данных генов в онтогенезе растения. Гены *MhyWUS1* и *MhyWUS2*, возможно, вовлечены в поддержание популяции стволовых клеток меристем цветка и соцветия. Ген *MhyWOX13*, вероятно, участвует в контроле корневой ниши стволовых клеток, формировании семенной коробочки, инициации цветения и базовых клеточных процессах. Область применения генов *MhyWOX4* и *MhyWOX2*, видимо, ограничена регуляцией стволовых клеток камбия и дифференцировкой яйцеклеток и зиготы соответственно.

Ключевые слова: *Monotropa hypopitys*; микогетеротроф; транскриптом; стволовые клетки растения; меристема; WUSCHEL RELATED HOMEOBOX; транскрипционные факторы; гены *WOX*.

Homeobox genes encoding WOX transcription factors in the flowering parasitic plant *Monotropa hypopitys*

A.V. Shchennikova ✉, O.A. Shulga, E.Z. Kochieva, A.V. Beletsky, M.A. Filyushin, N.V. Ravin, K.G. Skryabin

Institute of Bioengineering, Research Center of Biotechnology RAS, Moscow, Russia

The formation and maintenance of plant stem cell populations are controlled by the WOX family of homeobox-containing transcription factors. The evolution of *WOX* genes is considered to be one of the main reasons for flower morphology and plant architecture diversity. The stem cell regulation mechanism is considered to be conserved among flowering plants and most thoroughly studied in *Arabidopsis thaliana* as a model. The angiosperms morphological diversity implies that there are species-specific features inherent to this mechanism, while the basic signaling is maintained. The unique flowering achlorophyllous mycoheterotrophic plant *Monotropa hypopitys* obtains nutrients from the tree roots through the mycorrhizal symbiosis. In inductive conditions, the reproductive stem with bracts and an inflorescence at the top is developed from an adventitious root bud. Like other plants, *M. hypopitys* forms the inflorescence, flower and root meristems, presumably using conserved mechanisms regulating stem cell niche. The study of *M. hypopitys* homeobox genes should contribute to the knowledge about the function of WOX transcription factors and further understanding of the stem cells control mechanisms in mycoheterotrophic species. The aim of the present study was to analyze *M. hypopitys* root, bracts and flower transcriptomes obtained from two individual flowering plants. In total, five *WOX* genes have been identified and characterized by their structure, phylogeny, expression pattern, and possible functions. The assumption is that the *MhyWUS1* and *MhyWUS2* genes maintain the stem cell population in the inflorescence and flower meristems, *MhyWOX13* has a role in the control of root stem cell niche, seed pod formation, flowering initiation, and basic cellular processes, *MhyWOX4* functions in the

Received 11.11.2016
Accepted for publication 06.12.2016
© AUTHORS, 2017

✉ e-mail: shchennikova@yandex.ru

control of cambium stem cells, and *MhyWOX2* participates in the differentiation of egg cells and zygotes.

Key words: *Monotropa hypopitys*; mycoheterotroph; transcriptome; plant stem cells; meristem; WUSCHEL RELATED HOMEOBOX; transcription factors; *WOX* genes.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Щенникова А.В., Шульга О.А., Кочиева Е.З., Белецкий А.В., Филюшин М.А., Равин Н.В., Скрябин К.Г. Гомеобоксные гены факторов транскрипции WOX в паразитическом растении *Monotropa hypopitys* на стадии цветения. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):234-240. DOI 10.18699/VJ17.242

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Shchennikova A.V., Shulga O.A., Kochieva E.Z., Beletsky A.V., Filyushin M.A., Ravin N.V., Skryabin K.G. Homeobox genes encoding WOX transcription factors in the flowering parasitic plant *Monotropa hypopitys*. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(2):234-240. DOI 10.18699/VJ17.242

Апикальная меристема побега активна в течение всей жизни растения. При индуктивных условиях вегетативный апекс побега переходит в репродуктивное состояние соцветия, которое вместо листьев генерирует цветки (Besnard et al., 2011). В центральной зоне меристем всех видов поддерживается стабильная группа медленно делящихся стволовых клеток, потомство которых идет как на пополнение популяции, так и на формирование органов в периферийной зоне посредством дифференцировки. Механизм регуляции данного процесса признан консервативным для цветковых растений разных видов. Наиболее подробно он исследован в модельном растении *Arabidopsis thaliana* (Somssich et al., 2016). Под центральной зоной располагается организующий центр. Он контролирует поддержание популяции стволовых клеток через саморегулирующуюся петлю обратной связи CLAVATA3 (CLV3)–WUSCHEL (WUS). В свою очередь, транскрипционный фактор WUS активирует экспрессию *CLV3*, который связывается с рецепторами CLV1 и CLV2 и запускает сигнальный путь ограничения экспрессии *WUS*. Тем самым пептид CLV3 способствует дифференцировке стволовых клеток (Schoof et al., 2000; Katsir et al., 2011; Nimchuk et al., 2011; Yadav et al., 2011). В цветковой меристеме поддержание стволовых клеток носит временный характер до момента инициации всех цветковых органов (Prunet et al., 2009). Механизм терминации цветковой меристемы включает в себя регуляторную петлю WUS–AGAMOUS (AG) (Lenhard et al., 2001), которая начинается с активации транскрипции *AG* совместными усилиями WUS и LEAFY (LFY) (Lohmann et al., 2001) и заканчивается репрессией *WUS* в центре цветковой меристемы одновременно или сразу после инициации плодолистиков (Sun et al., 2009; Liu et al., 2011). В результате цветок с фиксированным количеством органов формируется при подавлении экспрессии *WUS* в момент индукции терминации цветковой меристемы, разный для каждого вида растений, что, предположительно, является одной из причин невероятного разнообразия цветковых форм (Somssich et al., 2016) среди более чем 350 000 видов покрытосеменных растений (Chapman, 2009).

В настоящее время считается, что для формирования правильной морфологии растению необходимы гомеодомен-содержащие факторы транскрипции, в частности продукты генов семейства WOX (Wuschel-related homeobOX), гомологичных гену *WUS* (Bürglin, Affolter, 2016). Центральная роль гена *WUS* в регуляции идентичности и поддержании плюрипотентных стволовых клеток в апикальной меристеме побега показана для растений разных видов (Salvini et al., 2016; Segatto et al., 2016). Экспрессия *WUS* ограничена группой клеток, составляющих организующий центр, к которому прилегают стволовые клетки (Besnard et al., 2011; Sun, Ito, 2015), а подавление его экспрессии приводит к появлению эктопических меристем, преждевременно прекращающих свое развитие (Laux et al., 1996). Помимо контроля популяции стволовых клеток в разных видах меристем, гены *WOX* участвуют также в эмбриональном и репродуктивном развитии растения (Haecker et al., 2004; Sarkar et al., 2007; Breuninger et al., 2008; Ji et al., 2010; Lin et al., 2013).

Филогенетические исследования разделили семейство WOX на древнюю «WOX13» (куда входят WOX10, WOX13, WOX14 и их гомологи), промежуточную «WOX9» (WOX8, 9, 11, 12 и их гомологи) и современную «WUS» (WOX1–7, WUS и их гомологи) клады (Haecker et al., 2004; van der Graaff et al., 2009). Члены третьей клады отсутствуют у водорослей, мхов и папоротников (за исключением Leptosporangiatae) (Nardmann, Werr, 2012). Эволюционная диверсификация генов *WOX* и последующее разделение их функций признаны одним из ключевых факторов влияния на сложность и разнообразие строения растений (Costanzo et al., 2014). Белки современной клады, WUS и WOX1–5, до сих пор сохраняют некоторые общие функции, даже имея разные паттерны экспрессии (Sarkar et al., 2007; Lin et al., 2013). За исключением WOX1, белки данной клады, предположительно, возникли до разделения голосеменных и покрытосеменных растений (Hedman et al., 2013). Кроме WOX4 (а также членов клад WOX9 и WOX13), всем им свойственна способность поддерживать популяцию стволовых клеток вегетативной и цветковой меристем (Lin et al., 2013). Поддержание стволовых клеток требует как репрессирующей, так и активирующей транскрипционной активности WUS (Yadav et al., 2011). Первое свойство обеспечивают избирательно присутствующие на С-конце белков WOX консервативные мотивы WUS-box и EAR, второе – наличие кислотного домена (Vandenbussche et al., 2009; Lin et al., 2013; Pi et al., 2015; Dolzblasz et al., 2016). Показано, что для поддержания популяции стволовых клеток в меристемах побега WUS-box незаменим, а EAR малозначим, в то время как кислотный домен необходим только для развития женских гаметофитов (Gross-Hardt et al., 2002; Lieber et al., 2011). Область между гомеодоменом и WUS-box определяет мобильность WUS (Yadav et al., 2011; Daum et al., 2014).

Несмотря на расширяющийся видовой круг растений, у которых идентифицированы и охарактеризованы гены *WOX* (Nardmann et al., 2007; Salvini et al., 2016), практи-

чески ничего не известно о генах *WOX* у Верескоцветных (Ericales). Единственный представитель Ericales, для которого известен ген *WUS*, – *Rhododendron ovatum* – древесное, фотосинтезирующее растение. В данном исследовании идентифицировано семейство генов *WOX* паразитического растения семейства Ericaceae, подъельника *Monotropa hypopitys* – бесхлорофиллного микогетеротрофа. Были охарактеризованы структура, филогения и паттерн экспрессии генов в различных тканях цветущего подъельника. Мы предполагаем, что исследование гомеозисных генов такого уникального растения может расширить знания о важных для эволюции растений факторах транскрипции WOX и механизмах контроля стволовых клеток.

Материалы и методы

В работе использованы данные транскриптомов корней с адвентивными почками, прицветников и цветков двух индивидуальных растений подъельника *M. hypopitys*, собранных в августе 2015 г. в хвойном лесу Калужской области. Растения находились на стадии цветения. Соцветие представляло собой поникающую кисть, состоящую из полностью сформированных цветков. Растения вместе с дерном содержали в теплице в искусственных условиях затемнения и повышенной влажности в течение недели. Образцы ткани для выделения РНК замораживали в жидком азоте. Суммарную РНК выделяли с помощью набора RNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, США). Образцы РНК секвенировали (RNA-seq) с помощью Illumina HiSeq2500 согласно протоколу производителя (Illumina Inc., США). Для каждого из шести транскриптомов получили и собрали в транскрипты 10–15 млн 100-нуклеотидных чтений (Beletsky et al., 2016; Ravin et al., 2016) с использованием программы Trinity v. 2.1.1 (Grabherr et al., 2011; Haas et al., 2013; https://github.com/trinityrnaseq/trinityrnaseq/wiki). Индивидуальные чтения собирали в контиги с помощью программы Bowtie 2 (Langmead, Salzberg, 2012). Кодирующие белок последовательности идентифицировали посредством программы TransDecoder (https://transdecoder.github.io/).

Идентификацию генов семейства WOX проводили посредством сравнения RNA-seq транскриптов с последовательностями из банка данных NCBI (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/). Относительный уровень экспрессии гена вычисляли для каждого транскриптома отдельно как число транскриптов данного гена на миллион транскриптов в транскриптоме с нормализацией между образцами с помощью программного обеспечения RSEM (Li, Dewey, 2011). Полученные данные усредняли для каждой пары транскриптомов одного вида (например, для транскриптомов корней двух индивидуальных растений). Стандартное отклонение нормализованного числа транскриптов каждого гена от среднего значения вычисляли с помощью программы Excel.

Для характеристики последовательностей анализировали открытые рамки считывания и транслировали их с помощью программы Clone Manager 7.11 (http://clonemanager-professional.software.informer.com/). Консервативные домены выявляли на сервере NCBI-CDD (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi) и вручную сравнивали с литературными данными. Выравнивание последовательностей генов и кодируемых ими белков проводили в программе ClustalX (Larkin et al., 2007). Для филогенетического исследования использовали программы NCBI BLAST (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/) и MEGA6 (Tamura et al., 2013) с построением древа методом максимального правдоподобия (Maximum Likelihood method), основанного на модели коррекции Пуассона (Poisson correction model) (Zuckerkandl, Pauling, 1965).

Результаты

Пять мРНК гомеобоксных генов, *MhyWUS1*, *MhyWUS2*, *MhyWOX2*, *MhyWOX4* и *MhyWOX13*, предположительно кодирующих факторы транскрипции семейства WOX, были идентифицированы в транскриптомах прицветников, цветков и корней, содержащих репродуктивные почки, и зарегистрированы в базе NCBI (таблица).

Проведен филогенетический анализ последовательностей кодируемых белков, благодаря чему они получили свое название. Гены *MhyWUS1*, *MhyWUS2*, *MhyWOX2* и *MhyWOX4* принадлежат к современной кладе WUS, а ген *MhyWOX13* – древней кладе WOX13 (рис. 1). При этом гены *MhyWUS1* и *MhyWUS2* ортологичны гену *WUS*, а гены *MhyWOX2*, *MhyWOX4* и *MhyWOX13* – предположительные ортологи генов *A. thaliana WOX2*, *WOX4* и *WOX13* соответственно.

Структурный анализ последовательностей генов *MhyWOX* и кодируемых ими аминокислотных последовательностей показал, что гены *MhyWOX13*, *MhyWOX4* и *MhyWUS2* кодируют полноразмерный белок. Два оставшихся транскрипта собрать полностью не удалось, видимо, по причине недостаточного качества приготовленных библиотек или их последующего секвенирования. Данные неполные транскрипты были транслированы в белковые последовательности MhyWOX2 и MhyWUS1, в которых, исходя из сравнения с известными гомологами, могут отсутствовать около 18 и 122 N-концевых аминокислот соответственно. Белки MhyWOX13, MhyWOX4, MhyWOX2 и MhyWUS2 содержат полную последовательность гомеодомена, характерного для гомеодомен-содержащих факторов транскрипции семейства WOX. Поиск консервативных последовательностей обнаружил канонический мотив WUS-box (Dolzblasz et al., 2016) на С-конце белков MhyWUS1, MhyWUS2, MhyWOX2 и MhyWOX4, а также мотив EAR (L[ED]L[RST]L) (Zhao et al., 2014) на С-конце MhyWUS1 и MhyWUS2. Кислотные участки, обогащенные остатками аспарагиновой и глутаминовой кислот, были выявлены между гомеодоменом и мотивом WUS-box в белках MhyWUS1, MhyWUS2 и MhyWOX4, за мотивом WUS-box и ближе к С-концу белка MhyWOX2, а также за гомеодоменом в последовательности MhyWOX13. На рис. 2 суммированы результаты структурного анализа предполагаемых белков MhyWOX.

Биоинформатический анализ характера экспрессии выделенных генов выявил наличие мРНК генов *MhyWUS1* и *MhyWUS2* в цветках, ее полное отсутствие в прицветниках и слабое присутствие мРНК *MhyWUS1* в образце корней с репродуктивными почками. Транскрипты *MhyWOX4* были обнаружены преимущественно в корнях, содержащих адвентивные почки, и на низком уровне – в цвет-

Properties of *MhyWOX* genes of *Monotropa hypopitys*

Gene	NCBI accession no.	mRNA size, nt	Protein size, aa	Homologue in *A. thaliana*	Homeodomain location, aa
MhyWUS1	KY114938	477	158	*WUS*	–
MhyWUS2	KY114939	870	289	*WUS*	31–90
MhyWOX2	KY114940	717	238	*WOX2*	3–61
MhyWOX4	KY114941	660	216	*WOX4*	81–139
MhyWOX13	KY114942	831	276	*WOX13*	94–156

ках. Экспрессия генов *MhyWOX2* и *MhyWOX13* найдена во всех тканях с почти 15-кратным преобладанием числа транскриптов *MhyWOX13* по сравнению с *MhyWOX2* (рис. 3).

Обсуждение

Уникальный представитель семейства цветущих семенных растений Ericaceae (Вересковые в составе базальной группы астеридов) подъельник *Monotropa hypopitys* является бесхлорофилльным микогетеротрофом, который получает питательные вещества от корней деревьев посредством симбиотического взаимодействия с микроскопическими грибами (Leake, 1994). Корневая система *M. hypopitys* состоит из микоризных корней и корней с адвентивными репродуктивными почками, из которых в индуктивных условиях развивается надземная часть растения – цветонос с прицветниками и соцветием на конце (Wallace, 1975; Mycoheterotrophy…, 2013).

Подъельник так же, как и другие высшие растения, формирует апикальные меристемы соцветия, цветка и корня, предположительно используя консервативные механизмы регуляции ниш стволовых клеток. Идентификация мРНК пяти генов семейства WOX в транскриптомах подъельника – первое подтверждение такого предположения. Согласно структурному анализу кодируемых генами белков, все они относятся к семейству WOX гомеодомен-содержащих факторов транскрипции. При этом наличие мотивов WUS-box и EAR свидетельствует о репрессирующих транскрипционных свойствах MhyWUS1, MhyWUS2, MhyWOX2 и MhyWOX4. Присутствие же последовательностей, насыщенных остатками кислых аминокислот, – признак

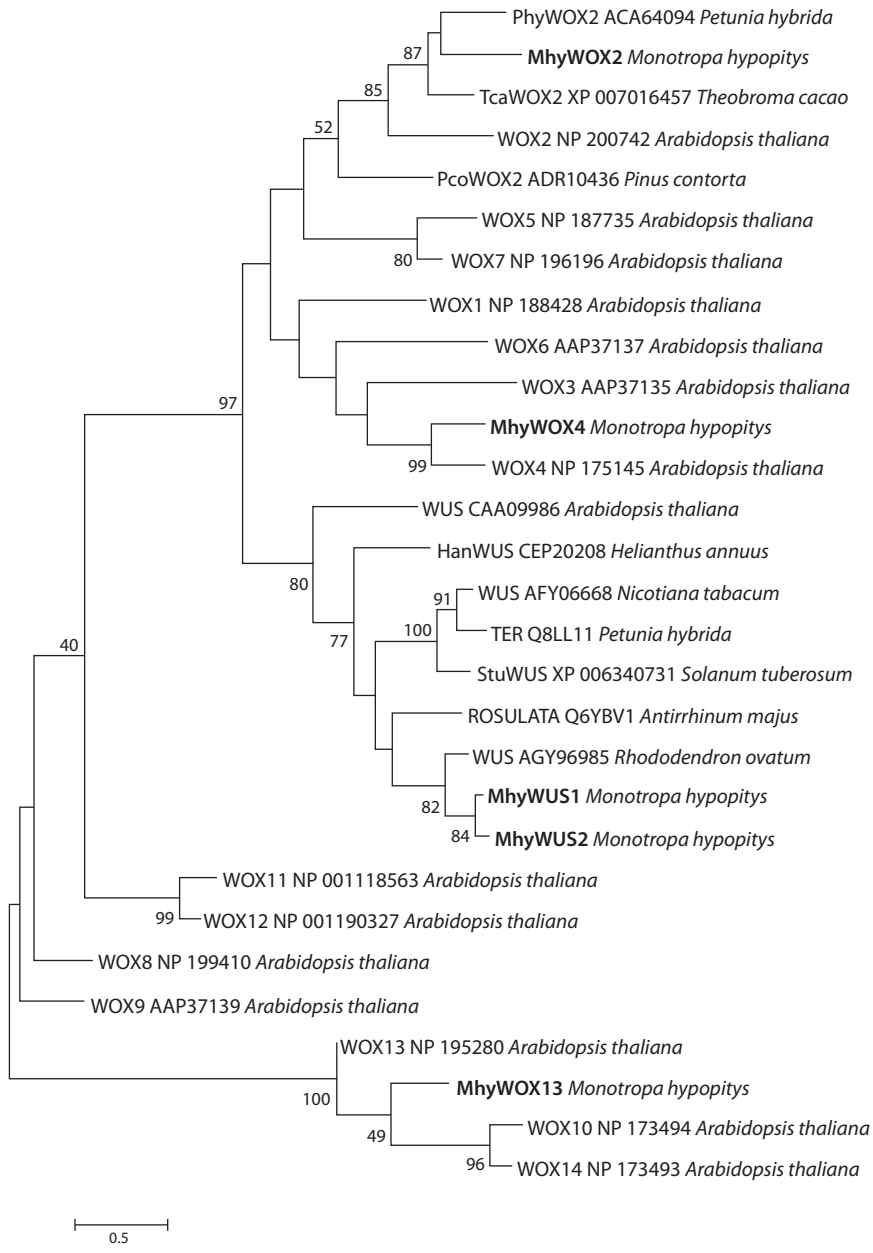


Fig. 1. Phylogenetic tree constructed on the base of evolutionary analysis of 29 amino acid sequences of WOX transcription factors.

The lengths of the branches are estimated as genetic distances (number of substitutions per site). Significant bootstrap values (the percentage of trees in which the associated taxa are clustered together) for 1000 replicates are shown at the bases of the branches. The names of proteins available from the NCBI database are followed by GenBank accession numbers. Names of proteins identified in this study are given in boldface.

```
MhyWUS1   : ------------------------------------------------------------------------ :   -
MhyWUS2   : MESQQAPNEQEGGSGMSGKNCSNYVCRQSSSRWTPTTDQIRILKELYYNNGVRSPTNDQIQRISARLRQY :  70
MhyWOX2   : ----------------------------ASPRWNPTKEQISMLENLYKK-GIRTPTAEQIQQITVRLQAY :  41
MhyWOX4   : ---------------------------------------MGSSSMNVQDQFTRGLPWEHESLSFL :  26
MhyWOX13  : ----------------------------MMDWEKKHQQQ--QEELMIGGNSNRGNNNGGMFVKVMTDEQ :  39

MhyWUS1   : ------------------------------------------------AGVPSP-SSSSCSTSSSPAMLA :  21
MhyWUS2   : GKIEGKNVFYWFQNHKARERQKKRFTNTNTNTADIPIIYNKYPIINTTPGVPSP-SSSSCSTSSSPAMLA : 139
MhyWOX2   : GIIEGKNVFYWFQNHKARQRQK-Q------KOESLAFSNTCFHNAASASFTPPP-SPTGWVVCSNPYYLH : 103
MhyWOX4   : TLACCKRLSTLAPKLPATTTATAF------DLKSFIRPENGFKKSNHIPETPQV-ETLPGGTRWNPTQEQ :  89
MhyWOX13  : MEILRKQIVAYATICEQLVEMHKS------LTSHPDLSGARLGNLYCDPFVTSVGHKITGRQRWTPTPVQ : 103

MhyWUS1   : VGQMGSYGYGSVTMEKSFRDCTISAGRGGGRGGGGGGSIGHNFWVGGGTDHHPYSQ-------FFDQRTN :  84
MhyWUS2   : VGQMGSYGYGSVTMEKSFGDCTISAGCGGG------VSLGHNFWVGGGADHHLYSLSY----PFFDQRTN : 199
MhyWOX2   : P--QSEIGPFYPQYPKILLPCGIKRRSRVDS---VENIKTHSSGEGFESAHSRYNN-------T-MHRIN : 160
MhyWOX4   : IGLLEMLYRDGMRTPNAQQIEQMTAQLGKYG-----KIEGKNVFYWFQNHKARERQ---------KQKRD : 145
MhyWOX13  : LQILERMFEQGNGTPSKQKIKDITSELSQHG-----QISETNVYNWFQNRRARSKRKQQVTASNNAESEA : 168

MhyWUS1   : TIEEDEQEKEQHKIETLPLFPIHADNVKQLPQEVPNSCYSG----------------NGYSYGNAYGY-- : 136
MhyWUS2   : TTEEDEQEEEQHETQTLPLFPIHADNVKQLPLEVPNSCYYSGRRNSWYQYSDLHYNCNGYSYGNAYGG-- : 267
MhyWOX2   : NTSSNNCNGKQETLSLFPLEPTGILLTRISSSSASSSAVISN---------------TPSSSSANNGG-- : 213
MhyWOX4   : SLGRGHCP--RTYTATIATLTVDTRRHGETGDESPNKRKCR----------------TWLIEGLEEDK-- : 195
MhyWOX13  : ETEVESVNEKKTKSEDFQSQPNSVQRAEDLCFQNPEVSSGMHSVDSQSNKVQPMYPSNGSSKPARSMGQM : 238

MhyWUS1   : -GGTARTSLE-------LSLNSYTGIGSSN-------- : 158
MhyWUS2   : -TATARTSLE-------LSLNSYTGIGSSN-------- : 289
MhyWOX2   : -FGDCDDHQP-------YFNFFSTGKGYCESDD----- : 238
MhyWOX4   : -EYYKVEGDK-------TLELFPLHPEAR---------- : 216
MhyWOX13  : SFYDTMLSNPRIDHLIGKMEVSGNYNLYLQEDDYNMTS : 276
```

Fig. 2. Conserved sequences characteristic of *M. hypopitys* MhyWOX transcription factors.

Homeobox sequences are highlighted by open boxes. WUS-box motifs are indicated with call-out bars. EAR motifs are highlighted with double underlining. Acid domains are highlighted with solid lines.

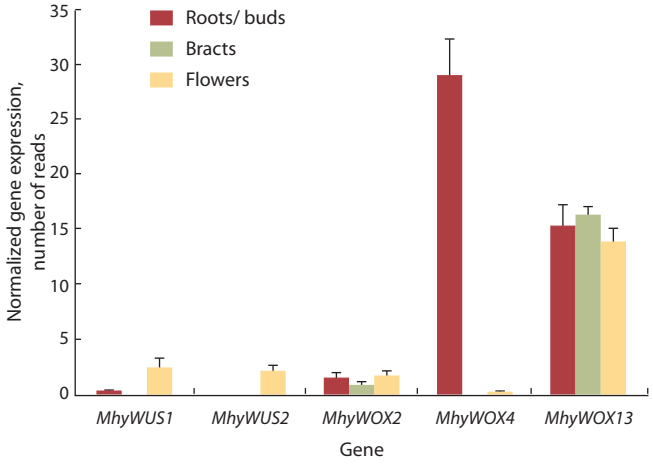


Fig. 3. Expression pattern of *MhyWOX* genes in *M. hypopitys* tissues.

способности всех пяти белков активировать транскрипцию генов-мишеней. Белок MhyWOX13, подобно своему ортологу WOX13, содержит только гомео- и кислотный домены (Dolzblasz et al., 2016).

Из 14 возможных генов семейства WOX, характерных для *A. thaliana*, мы обнаружили экспрессию четырех генов, представителей двух из трех существующих клад – древней и современной. Количество генов *WOX* может зависеть от систематического положения растения. К примеру, согласно данным NCBI, ортологи WOX14 (*A. thaliana*) найдены только у представителей семейства Brassicaceae (*Capsella rubella*, *Camelina sativa*, *Brassica* spp. и др.). Полная гетеротрофия подъельника, связанная с деградацией и/или модификацией вегетативных структур растения (Bidartondo, 2005), объясняет отсутствие мРНК генов, ортологичных *WOX1* и *WOX3*, совместно участвующих в регуляции развития листовой пластинки и края листа (Nakata et al., 2012). Отсутствие транскрипта гена, подобного *WOX5*, – одного из основных регуляторов структуры и поддержания функции стволовых клеток в корневой меристеме (Sarkar et al., 2007; Ощепкова и др., 2016), может быть следствием низкого уровня экспрессии ортологичного гена в корневой системе подъельника. Возможно также, что в транскриптомах корней подъельника слишком мала доля, приходящаяся на кончики корней, поэтому транскрипты *WOX5* не найдены. В то же время в корнях был обнаружен высокий уровень экспрессии гена *MhyWOX13*, который может участвовать в развитии корневой ниши стволовых клеток (Deveaux et al., 2008) в подъельнике в качестве основного исполнителя, несмотря на отсутствие мотива WUS-box. На столь же высоком уровне ген *MhyWOX13* транскрибируется в прицветниках и цветках, возможно, подобно *WOX13*, участвуя в развитии перегородки плода и фертильности (Romera-Branchat et al., 2013), инициации цветения (экспрессия в корнях распространяется, предположительно, и на многочисленные адвентивные почки) и других базовых процессах развития (Sakakibara et al., 2014). Отсутствие транскриптов генов, ортологичных *WOX8* и *WOX9*, которые функционируют во время раннего эмбриогенеза (Haecker et al., 2004; Breun-

inger et al., 2008), может объясняться приготовлением библиотек мРНК из материала на более ранней стадии цветения. На это указывает и отсутствие транскриптов, подобных *WOX6*, участвующему в регуляции развития семязачатков (Park et al., 2005).

Кроме *MhyWOX2*, современная клада в подъельнике представлена двумя *WUS*-подобными генами с ограниченной цветком экспрессией, которые, предположительно, контролируют популяцию стволовых клеток в меристемах соцветия и цветка (Haecker et al., 2004), и геном *MhyWOX4* с высоким уровнем транскрипции в корнях, который может отвечать за стволовые клетки камбия (Suer et al., 2011). Наличие следовых количеств мРНК *MhyWUS1* в транскриптоме корня говорит о его вероятной активности в меристемах адвентивных почек.

Таким образом, идентифицировано семейство гомеобоксных генов *WOX* в паразитическом высшем растении *M. hypopitys*. Охарактеризованы структура, филогения, паттерн экспрессии, а также возможные функции генов. Полученные результаты свидетельствуют о консервативности механизмов контроля стволовых клеток покрытосеменных растений с участием генов *WOX*.

Acknowledgments

This work was supported by the Russian Science Foundation, project 14-24-00175. Plants brought from the forest with turf were kept under controlled humidity and illuminance in a pilot climate control facility at the Institute of Bioengineering, Research Center “Fundamentals of Biotechnology”, Russian Academy of Sciences.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Beletsky A.B., Filyushin M.A., Gruzdev E.V., Mazur A.M., Prokhortchouk E.B., Kochieva E.Z., Mardanov A.B., Ravin N.V., Skryabin K.G. De novo transcriptome assembly of the mycoheterotrophic plant Monotropa hypopitys. Genomics Data. 2016;11:60-61. eCollection 2017. DOI 10.1016/j.gdata.2016.11.020.

Besnard F., Vernoux T., Hamant O. Organogenesis from stem cells in planta: multiple feedback loops integrating molecular and mechanical signals. Cell Mol. Life Sci. 2011;68(17):2885-2906. DOI 10.1007/s00018-011-0732-4.

Bidartondo M.I. The evolutionary ecology of myco-heterotrophy. New Phytol. 2005;167(2):335-352. DOI 10.1111/j.1469-8137.2005.01429.x.

Breuninger H., Rikirsch E., Hermann M., Ueda M., Laux T. Differential expression of WOX genes mediates apical-basal axis formation in the Arabidopsis embryo. Dev. Cell. 2008;14(6):867-876. DOI 10.1016/j.devcel.2008.03.008.

Bürglin T.R., Affolter M. Homeodomain proteins: an update. Chromosoma. 2016;125(3):497-521. DOI 10.1007/s00412-015-0543-8.

Chapman A.D. Numbers of Living Species in Australia and the World. Australian Biological Resources Study, Canberra, Australia, 2009. Available at http://www.environment.gov.au/node/13869#magnoliophyta.

Costanzo E., Trehin C., Vandenbussche M. The role of WOX genes in flower development. Ann. Bot. 2014;114(7):1545-1553. DOI 10.1093/aob/mcu123.

Daum G., Medzihradszky A., Suzaki T., Lohmann J.U. A mechanistic framework for noncell autonomous stem cell induction in Arabidopsis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2014;111(40):14619-14624. DOI 10.1073/pnas.1406446111.

Deveaux Y., Toffano-Nioche C., Claisse G., Thareau V., Morin H., Laufs P., Moreau H., Kreis M., Lecharny A. Genes of the most conserved WOX clade in plants affect root and flower development in Arabidopsis. BMC Evol. Biol. 2008;8:291. DOI 10.1186/1471-2148-8-291.

Dolzblasz A., Nardmann J., Clerici E., Causier B., van der Graaff E., Chen J., Davies B., Werr W., Laux T. Stem cell regulation by Arabidopsis WOX genes. Mol. Plant. 2016;9(7):1028-1039. DOI 10.1016/j.molp.2016.04.007.

Grabherr M.G., Haas B.J., Yassour M., Levin J.Z., Thompson D.A., Amit I., Adiconis X., Fan L., Raychowdhury R., Zeng Q., Chen Z., Mauceli E., Hacohen N., Gnirke A., Rhind N., di Palma F., Birren B.W., Nusbaum C., Lindblad-Toh K., Friedman N., Regev A. Full-length transcriptome assembly from RNA-seq data without a reference genome. Nat. Biotechnol. 2011;29(7):644-652. DOI 10.1038/nbt.1883.

Gross-Hardt R., Lenhard M., Laux T. WUSCHEL signaling functions in interregional communication during Arabidopsis ovule development. Genes Dev. 2002;16(9):1129-1138. DOI 10.1101/gad.225202.

Haas B.J., Papanicolaou A., Yassour M., Grabherr M., Blood P.D., Bowden J., Couger M.B., Eccles D., Li B., Lieber M., Macmanes M.D., Ott M., Orvis J., Pochet N., Strozzi F., Weeks N., Westerman R., William T., Dewey C.N., Henschel R., Leduc R.D., Friedman N., Regev A. De novo transcript sequence reconstruction from RNA-seq using the Trinity platform for reference generation and analysis. Nat. Protoc. 2013;8(8):1494-1512. DOI 10.1038/nprot.2013.084.

Haecker A., Gross-Hardt R., Geiges B., Sarkar A., Breuninger H., Herrmann M., Laux T. Expression dynamics of WOX genes mark cell fate decisions during early embryonic patterning in Arabidopsis thaliana. Development. 2004;131(3):657-668. DOI 10.1242/dev.00963.

Hedman H., Zhu T., von Arnold S., Sohlberg J.J. Analysis of the WUSCHEL-RELATED HOMEOBOX gene family in the conifer picea abies reveals extensive conservation as well as dynamic patterns. BMC Plant Biol. 2013;13:89. DOI 10.1186/1471-2229-13-89.

Ji J., Shimizu R., Sinha N., Scanlon M.J. Analyses of WOX4 transgenics provide further evidence for the evolution of the WOX gene family during the regulation of diverse stem cell functions. Plant Signal. Behav. 2010;5(7):916-920. DOI 10.1104/pp.109.149641.

Katsir L., Davies K.A., Bergmann D.C., Laux T. Peptide signaling in plant development. Curr. Biol. 2011;21(9):R356-R364. DOI 10.1016/j.cub.2011.03.012.

Langmead B., Salzberg S. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. Nat. Methods. 2012;9:357-359. DOI 10.1038/nmeth.1923.

Larkin M.A., Blackshields G., Brown N.P., Chenna R., McGettigan P.A., McWilliam H., Valentin F., Wallace I.M., Wilm A., Lopez R., Thompson J.D., Gibson T.J., Higgins D.G. Clustal W and Clustal X version 2.0. Bioinformatics. 2007;23(21):2947-2948. DOI 10.1093/bioinformatics/btm404.

Laux T., Mayer K.F., Berger J., Jürgens G. The WUSCHEL gene is required for shoot and floral meristem integrity in Arabidopsis. Development. 1996;122(1):87-96. http://dev.biologists.org/content/develop/122/1/87.full.pdf.

Leake J.R. The biology of myco-heterotrophic (‘saprophytic’) plants. New Phytol. 1994;127:171-216. DOI 10.1111/j.1469-8137.1994.tb04272.x.

Lenhard M., Bohnert A., Jürgens G., Laux T. Termination of stem cell maintenance in Arabidopsis floral meristems by interactions between WUSCHEL and AGAMOUS. Cell. 2001;105(6):805-814. http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674(01)00390-7.

Li B., Dewey C.N. RSEM: accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome. BMC Bioinformatics. 2011;12:323. DOI 10.1186/1471-2105-12-323.

Lieber D., Lora J., Schrempp S., Lenhard M., Laux T. Arabidopsis WIH1 and WIH2 genes act in the transition from somatic to repro-

ductive cell fate. Curr. Biol. 2011;21(12):1009-1017. DOI 10.1016/j.cub.2011.05.015.

Lin H., Niu L., McHale N.A., Ohme-Takagi M., Mysore K.S., Tadege M. Evolutionarily conserved repressive activity of WOX proteins mediates leaf blade outgrowth and floral organ development in plants. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2013;110(1):366-371. DOI 10.1073/pnas.1215376110.

Liu X., Kim Y.J., Müller R., Yumul R.E., Liu C., Pan Y., Cao X., Goodrich J., Chen X. AGAMOUS terminates floral stem cell maintenance in Arabidopsis by directly repressing WUSCHEL through recruitment of Polycomb Group proteins. Plant Cell. 2011;23(10):3654-3670. DOI 10.1105/tpc.111.091538.

Lohmann J.U., Hong R.L., Hobe M., Busch M.A., Parcy F., Simon R., Weigel D. A molecular link between stem cell regulation and floral patterning in Arabidopsis. Cell. 2001;105(6):793-803. http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674(01)00384-1.

Mycoheterotrophy: The Biology of Plants Living on Fungi. Ed. V.S.F.T. Merckx. New York: Springer Science+Buisness Media, 2013. DOI 10.1007/978-1-4614-5209-6.

Nakata M., Matsumoto N., Tsugeki R., Rikirsch E., Laux T., Okada K. Roles of the middle domain-specific WUSCHEL-RELATED HOMEOBOX genes in early development of leaves in Arabidopsis. Plant Cell. 2012;24(2):519-535. DOI 10.1105/tpc.111.092858.

Nardmann J., Werr W. The invention of WUS-like stem cell-promoting functions in plants predates leptosporangiate ferns. Plant Mol. Biol. 2012;78(1-2):123-134. DOI 10.1007/s11103-011-9851-4.

Nardmann J., Zimmermann R., Durantini D., Kranz E., Werr W. WOX gene phylogeny in Poaceae: a comparative approach addressing leaf and embryo development. Mol. Biol. Evol. 2007;24(11):2474-2484. DOI 10.1093/molbev/msm182.

Nimchuk Z.L., Tarr P.T., Ohno C., Qu X., Meyerowitz E.M. Plant stem cell signaling involves ligand-dependent trafficking of the CLAVATA1 receptor kinase. Curr. Biol. 2011;21(5):345-352. DOI 10.1016/j.cub.2011.01.039.

Oshchepkova E.A., Omelyanchuk N.A., Savina M.S., Pasternak T., Kolchanov N.A., Zemlyanskaya E.V. Systems biology analysis of the *WOX5* gene and its functions in the root stem cell niche. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016;20(4):459-474. DOI 10.18699/VJ16.173. (in Russian)

Park S.O., Zheng Z., Oppenheimer D.G., Hauser B.A. The PRETTY FEW SEEDS2 gene encodes an Arabidopsis homeodomain protein that regulates ovule development. Development. 2005;132(4):841-849. DOI 10.1242/dev.01654.

Pi L., Aichinger E., van der Graaff E., Llavata-Peris C.I., Weijers D., Hennig L., Groot E., Laux T. Organizer-derived WOX5 signal maintains root columella stem cells through chromatin-mediated repression of CDF4 expression. Dev. Cell. 2015;33(5):576-588. DOI 10.1016/j.devcel.2015.04.024.

Prunet N., Morel P., Negrutiu I., Trehin C. Time to stop: flower meristem termination. Plant Physiol. 2009;150(4):1764-1772. DOI 10.1104/pp.109.141812.

Ravin N.V., Gruzdev E.V., Beletsky A.V., Mazur A.M., Prokhortchouk E.B., Filyushin M.A., Kochieva E.Z., Kadnikov V.V., Mardanov A.V., Skryabin K.G. The loss of photosynthetic pathways in the plastid and nuclear genomes of the non-photosynthetic mycoheterotrophic eudicot *Monotropa hypopitys*. BMC Plant Biol. 2016;16(3):238. DOI 10.1186/s12870-016-0929-7.

Romera-Branchat M., Ripoll J.J., Yanofsky M.F., Pelaz S. The WOX13 homeobox gene promotes replum formation in the Arabidopsis thaliana fruit. Plant. J. 2013;73(1):37-49. DOI 10.1111/tpj.12010.

Sakakibara K., Reisewitz P., Aoyama T., Friedrich T., Ando S., Sato Y., Tamada Y., Nishiyama T., Hiwatashi Y., Kurata T., Ishikawa M., Deguchi H., Rensing S.A., Werr W., Murata T., Hasebe M., Laux T. WOX13-like genes are required for reprogramming of leaf and protoplast cells into stem cells in the moss Physcomitrella patens. Development. 2014;141(8):1660-1670. DOI 10.1242/dev.097444.

Salvini M., Fambrini M., Giorgetti L., Pugliesi C. Molecular aspects of zygotic embryogenesis in sunflower (Helianthus annuus L.): correlation of positive histone marks with HaWUS expression and putative link HaWUS/HaL1L. Planta. 2016;243(1):199-215. DOI 10.1007/s00425-015-2405-2.

Sarkar A.K., Luijten M., Miyashima S., Lenhard M., Hashimoto T., Nakajima K., Scheres B., Heidstra R., Laux T. Conserved factors regulate signalling in Arabidopsis thaliana shoot and root stem cell organizers. Nature. 2007;446(7137):811-814. DOI 10.1038/nature05703.

Schoof H., Lenhard M., Haecker A., Mayer K.F., Jürgens G., Laux T. The stem cell population of Arabidopsis shoot meristems in maintained by a regulatory loop between the CLAVATA and WUSCHEL genes. Cell. 2000;100(6):635-644. http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80700-X.

Segatto A.L., Thompson C.E., Freitas L.B. Contribution of WUSCHEL-related homeobox (WOX) genes to identify the phylogenetic relationships among Petunia species. Genet. Mol. Biol. 2016. Epub ahead of print. DOI 10.1590/1678-4685-GMB-2016-0073.

Somssich M., Je B.I., Simon R., Jackson D. CLAVATA-WUSCHEL signaling in the shoot meristem. Development. 2016;143(18):3238-3248. DOI 10.1242/dev.133645.

Suer S., Agusti J., Sanchez P., Schwarz M., Greb T. WOX4 imparts auxin responsiveness to cambium cells in Arabidopsis. Plant Cell. 2011;23:3247-3259. DOI 10.1105/tpc.111.087874.

Sun B., Ito T. Regulation of floral stem cell termination in Arabidopsis. Front. Plant Sci. 2015;6:17. DOI 10.3389/fpls.2015.00017.

Sun B., Xu Y., Ng K.H., Ito T. A timing mechanism for stem cell maintenance and differentiation in the Arabidopsis floral meristem. Genes Dev. 2009;23(15):1791-1804. DOI 10.1101/gad.1800409.

Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. Mol. Biol. Evol. 2013;30(12):2725-2729. DOI 10.1093/molbev/mst197.

van der Graaff E., Laux T., Rensing S.A. The WUS homeobox-containing (WOX) protein family. Genome Biol. 2009;10(12):248. DOI 10.1186/gb-2009-10-12-248.

Vandenbussche M., Horstman A., Zethof J., Koes R., Rijpkema A.S., Gerats T. Differential recruitment of WOX transcription factors for lateral development and organ fusion in Petunia and Arabidopsis. Plant Cell. 2009;21(8):2269-2283. DOI 10.1105/tpc.109.065862.

Wallace G.D. Studies of the Monotropoidiae (Ericaceae): taxonomy and distribution. Wassman J. Biol. 1975;33:1-88.

Yadav R.K., Perales M., Gruel J., Girke T., Jönsson H., Reddy G.V. WUSCHEL protein movement mediates stem cell homeostasis in the Arabidopsis shoot apex. Genes Dev. 2011;25(19):2025-2030. DOI 10.1101/gad.17258511.

Zhao S., Jiang Q.T., Ma J., Zhang X.W., Zhao Q.Z., Wang X.Y., Wang C.S., Cao X., Lu Z.X., Zheng Y.L., Wei Y.M. Characterization and expression analysis of WOX5 genes from wheat and its relatives. Gene. 2014;537(1):63-69. DOI 10.1016/j.gene.2013.12.022.

Zuckerkandl E., Pauling L. Evolutionary divergence and convergence in proteins. N.Y.: Acad. Press, 1965;97-166.

Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):241-249
DOI 10.18699/VJ17.243

Разработка генетической классификации хромосом *Aegilops columnaris* Zhuk. на основании анализа интрогрессивных линий *Triticum aestivum* × *Ae. columnaris*

А.А. Шишкина[1] ✉, А.Ю. Драгович[1], А.С. Рубан[2], С.Н. Сибикеев[3], А.Е. Дружин[3], Е.Д. Бадаева[1]

[1] Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия
[2] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия
[3] Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Юго-Востока», Саратов, Россия

Aegilops columnaris Zhuk. – потенциальный источник новых генов для улучшения пшеницы, однако до настоящего времени этот вид в селекции не использовался. В данной работе впервые получены и охарактеризованы интрогрессивные линии *T. aestivum* × *Ae. columnaris*. Молекулярно-цитогенетический анализ 20 интрогрессивных линий показал, что в основном они цитологически стабильны и несут от одной до трех пар хромосом эгилопса, дополняющих или замещающих хромосомы пшеницы. В кариотипах 15 линий методами С-дифференциального окрашивания и флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) были выявлены пять разных хромосом эгилопса, идентифицированных нами на основе анализа спектров замещений как 3Ae[1], 3Ae[2], 5Ae[2], 6Ae[1] и 6Ae[2]. Помимо этого, в линии 2305/1 была обнаружена моносомно дополненная хромосома Ae–*a*, классифицировать которую на данном этапе исследования невозможно. В нескольких линиях также выявлены акроцентрические и телоцентрические хромосомы (Ae–*b* и Ae–*c*), предположительно образовавшиеся из неидентифицированных эгилопсных хромосом путем крупных делеций. Сравнение электрофоретических спектров глиадинов интрогрессивных линий Л-2310/1 и Л-2304/1 с замещениями хромосомы 6D на хромосомы 6-й гомеологической группы *Ae. columnaris* показало, что аллели глиадинкодирующих локусов у них отличаются. Это подтверждает, что линии Л-2310/1 и Л-2304/1 содержат неидентичные 6Ae-хромосомы. С учетом результатов более ранних работ теперь возможна идентификация 8 из 14 хромосом *Aegilops columnaris*.

Ключевые слова: *Aegilops columnaris*; интрогрессивные линии; дифференциальное окрашивание; FISH; замещения; транслокации; глиадины; запасные белки.

Development of the genetic classification of *Aegilops columnaris* Zhuk. chromosomes based on the analysis of introgression lines *Triticum aestivum* × *Ae. columnaris*

A.A. Shishkina[1] ✉, A.Yu. Dragovich[1], A.S. Rouban[2], S.N. Sibikeev[3], A.E. Druzhin[3], E.D. Badaeva[1]

[1] Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia
[2] Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia
[3] Agricultural Research Institute for South-East Region, Saratov, Russia

Aegilops columnaris Zhuk. is a potential source of new genes for wheat improvement. However, this species has not yet been used in practical breeding. In the present work we have for the first time reported the development and molecular-cytogenetic characterization of *T. aestivum* × *Ae. columnaris* introgression lines. Analysis has not revealed alien genetic material in five of the 20 lines we have studied, while the remaining lines carried from 1 to 3 pairs of *Aegilops* chromosomes as addition(s) or substitution(s) to wheat chromosomes. Altogether, five different chromosomes of *Aegilops columnaris* have been detected in the karyotypes of 15 lines by C-banding and fluorescent in-situ hybridization (FISH). Based on substitution spectra, these chromosomes were identified as 3Ae[1], 3Ae[2], 5Ae[2], 6Ae[1] and 6Ae[2]. In addition, another *Aegilops* chromosome has been found in the line 2305/1 as a monosomic addition; due to the lack of group-specific markers we were unable to assign this chromosome to a particular genome or a genetic group and therefore it was designated Ae-*a*. In several lines acrocentric and telocentric chromosomes have been revealed (Ae-*b* and Ae-*c*). It is most likely that these chromosomes were derived from unknown *Aegilops* chromosomes due to a large deletion. A comparison of electrophoretic spectra of gliadins in introgression lines L-2310/1 and L-2304/1 with substitutions of chromosome 6D with two different chromosomes of *Ae. columnaris* (these lines were assigned to the 6th homoeologous group

Received 02.06.2016
Accepted for publication 02.07.2016
© AUTHORS, 2017

✉ e-mail: ceroplastes@yandex.ru

based on C-banding data) has shown that they carry different alleles of the gliadin loci. This observation confirmed that lines L-2310/1 and L-2304/1 contained non-identical 6Ae chromosomes. Taking into consideration our previous results of FISH analyses, three other *Ae. columnaris* chromosomes can be assigned to homoeologous groups 1, 5 and 7 of the U-genome based on the location of 5S and 45S rDNA loci (1U and 5U) or pSc119.2 probe distribution (7U). Thus, based on our current data as well as on the results of earlier work, we can identify eight out of the 14 chromosomes of *Aegilops columnaris*.

Key words: *Aegilops columnaris*; introgression lines; C-banding; FISH; substitution; translocation; gliadins; seed storage proteins.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Шишкина А.А., Драгович А.Ю., Рубан А.С., Сибикеев С.Н., Дружин А.Е., Бадаева Е.Д. Разработка генетической классификации хромосом *Aegilops columnaris* Zhuk. на основании анализа интрогрессивных линий *Triticum aestivum* × *Ae. columnaris*. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):241-249. DOI 10.18699/VJ17.243

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Shishkina A.A., Dragovich A.Yu., Rouban A.S., Sibikeev S.N., Druzhin A.E., Badaeva E.D. Development of the genetic classification of *Aegilops columnaris* Zhuk. chromosomes based on the analysis of introgression lines *Triticum aestivum* × *Ae. columnaris*. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(2):241-249. DOI 10.18699/VJ17.243

Aegilops columnaris Zhuk. – тетраплоидный вид злаков, относящийся к секции Aegilops рода *Aegilops* L. и произрастающий главным образом в Турции и на восточной части Дуги плодородия (Van Slageren, 1994). Показано, что один из геномов *Ae. columnaris* Zhuk. унаследован от диплоидного вида *Ae. umbellulata* Zhuk. (Kihara, 1954); ему был присвоен символ U. Вид, послуживший донором второго генома, до сих пор не установлен, в связи с чем он был обозначен символом X^c (Dvořák et al., 1998; Badaeva et al., 2004).

Ae. columnaris – одного из представителей диких сородичей мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) – можно использовать в селекционном процессе для улучшения генофонда хлебопекарной пшеницы как источник новых генов хозяйственно ценных признаков, в частности устойчивости к патогенам и неблагоприятным факторам окружающей среды. Для успешной интрогрессии чужеродного генетического материала и оценки ее влияния на характеристики селекционных линий необходима информация о локализации и размерах чужеродных фрагментов. Достоверную оценку характера интрогрессии можно получить при использовании маркерных систем разных типов (Салина и др., 2008).

Один из наиболее точных и надежных методов определения гомеологии хромосом видов, родственных пшенице, – комплексный анализ чужеродно-дополненных и чужеродно-замещенных линий. С целью идентификации чужеродных хромосом, определения их геномной принадлежности и гомеологической группы применяют морфобиологические, генетические, цитогенетические и молекулярно-генетические, а также биохимические маркеры.

Морфо-биологические маркеры позволяют предположить наличие чужеродного генетического материала и оценить его влияние на морфологию и физиологические признаки растений непосредственно в поле. Удобной, быстрой и недорогой системой маркирования является электрофоретический анализ запасных белков зерновки пшеницы – глиадинов. Генетический контроль электрофоретических компонентов глиадина осуществляется шестью независимыми локусами, *Gli-1A*, *Gli-1B*, *Gli-1D*, расположенными на хромосомах 1-й и 6-й гомеологических групп, аллели которых приведены в Каталоге генных символов пшеницы (McIntosh et al., 2010). Каждый локус контролирует синтез нескольких компонентов глиадина, которые наследуются сцепленными группами, получившими название блоков компонентов. Компоненты, входящие в блок и контролируемые одним локусом (кластером генов), различаются подвижностью в электрическом поле, интенсивностью окраски и молекулярной массой. Свободная комбинация аллелей *Gli*-локусов позволяет теоретически идентифицировать более 50 млн генотипов, что дает возможность с высокой точностью определять генотипы сортов и гибридов пшеницы по хромосомам 1-й и 6-й групп (Shepherd, 1968; Созинов, Попереля, 1979; Новосельская-Драгович, 2015).

Метод дифференциального окрашивания (С-бэндинг) выявляет районы конститутивного гетерохроматина на хромосомах. Рисунок С-бэндинга видоспецифичен, что позволяет четко идентифицировать чужеродные хромосомы в селекционном материале. Для решения этой задачи также широко применяют *in situ* гибридизацию. Этот метод, использующий флуоресцентную детекцию сигнала, позволяет напрямую картировать последовательности ДНК на хромосомах (Schneider et al., 2003; Salina et al., 2006; Badaeva et al., 2010).

На сегодняшний день серии линий с замещениями/дополнениями по хромосомам диких видов были получены для 15 диплоидных и полиплоидных видов рода *Aegilops* (Schneider et al., 2008; Zhang et al., 2015); сообщений о наличии таких линий с *Ae. columnaris* в литературе нет. Разработка генетической классификации хромосом этого вида – трудная задача, поскольку значительные преобразования его геномов в процессе эволюции привели к существенным структурным изменениям в них, что осложняет установление гомеологии или геномной принадлежности по сходству морфологических параметров хромосом и ри-

сунков С-бэндинга. В связи с этим особую важность приобретают получение и характеристика замещенных и/или дополненных линий *Ae. columnaris* с мягкой пшеницей.

Цель нашего исследования – анализ 20 интрогрессивных линий *T. aestivum* × *Ae. columnaris* для выявления чужеродных хромосом и определения их гомеологии с хромосомами мягкой пшеницы.

Материалы и методы

Растительный материал. В работе были изучены с помощью молекулярно-цитогенетических и биохимических маркеров 20 пшенично-эгилопсных (*Ae. columnaris*) интрогрессивных линий, полученных в НИИСХ Юго-Востока (г. Саратов). В качестве материнских форм использованы сорта мягкой пшеницы Добрыня и Л503 (носители пшенично-пырейной транслокации T7DL–7Ai) и сорт Саратовская 68 с нормальным набором хромосом, а также линия к-1193 *Ae. columnaris* как отцовская форма. Линии отбирали по устойчивости к листовой ржавчине или наличию морфологических признаков, не свойственных пшенице. Схемы получения линий представлены в табл. 1.

Методы молекулярно-цитогенетического анализа. Дифференциальное окрашивание хромосом проводили согласно протоколу, описанному в работе (Badaeva et al., 1994). Хромосомы пшеницы классифицировали в соответствии с генетической номенклатурой (Friebe, Gill, 1996), но для хромосом *Ae. columnaris* генетической классификации нет. В связи с этим при разработке номенклатуры хромосом этого вида мы исходили из тех же принципов, что и для классификации хромосом пшеницы. Хромосомы *Ae. columnaris* (обозначенные далее Ae) подразделяли на семь гомеологических групп, в каждую из которых входили представители двух геномов: U и X^c (Badaeva et al., 2004). Принадлежность пяти хромосом *Ae. columnaris* к определенным генетическим группам установлена в настоящем исследовании на основании анализа спектров замещений. При обозначении этих хромосом номер группы ставили перед символом «Ae». Определить геномную принадлежность этих хромосом по спектрам замещений, однако, невозможно. В связи с этим для различения двух хромосом эгилопса, отнесенных к одной и той же группе, использовали верхние индексы 1 или 2. Хромосомы эгилопса с неизвестной классификацией обозначали как Ae–*x*, где *x* – условный номер (*a*–*k*), разный для разных типов хромосом.

Флуоресцентную гибридизацию *in situ* (FISH) с использованием зондов на основе клонированных последовательностей ДНК – pSc119.2 (Bedbrook et al., 1980), специфичного для хромосом B-генома, и pAs1 (Rayburn, Gill, 1986), специфичного для хромосом D-генома, – проводили в соответствии с ранее опубликованными методиками (Salina et al., 2006; Badaeva et al., 2010).

Метод электрофореза глиадинов в полиакриламидном геле. Экстракцию глиадинов и электрофорез в полиакриламидном геле (ПААГе) проводили согласно принятым в лаборатории методикам (Bushuk, Zillman, 1978; Новосельская и др., 1983). Идентификацию аллелей осуществляли в соответствии с каталогом аллелей глиадина (Metakovsky, 1991; Metakovsky, Novoselskaya, 1991).

Table 1. The investigated material and its origin

№	Accession	Pedigree
1	L-2304/1	F_5: L–503/*Ae. colum.* //L–503/3/ L–503
2	L-2305/1	»
3	L-2306/3	»
4	L-2307/1W	F_4: Dob./*Ae. colum.*//Dob./3/Dob./4/Dob.
5	L-2307/1w	»
6	L-2310/1	F_4: L–503/*Ae. colum.*//L–503/3/L–503/4/ L–503
7	L-32	F_5: S.68/ *Ae. colum.*//S.68
8	L-34	F_6: S.68/ *Ae. colum.*//S.68
9	L-2185/1	S.68/ *Ae. colum.* *2//S.68
10	L-2082/2	Dob./ *Ae. colum.*//S.68/3/Dob./4/S.68
11	L-2081/3	»
12	L-2309/9	F_4: Dob./ *Ae. colum.*//Dob./3/Dob./4/Dob.
13	L-2311/4	F_4: L–503/ *Ae. colum.*//L–503/3/L–503/4/L–503
14	L-2040/1	S.68/ *Ae. colum.**2//S.68
15	L-2039/1	»
16	L-2185/2	»
17	L-2034/3–1	Dob./ *Ae. colum.**2//S.68
18	L-2034/3–2	»
19	L-2054/3	L–503/*Ae. colum.**2//L–503
20	L-2308/5	F_4: Dob./*Ae. colum.*//Dob./3/Dob./4/Dob.

Dob., Dobrynya; S. 68, Saratovskaya 68; *Ae. colum.*, *Ae. columnaris* (k–1193)

Результаты

Дифференциальное окрашивание хромосом. Кариотип *Ae. columnaris* значительно отличается от кариотипа мягкой пшеницы по морфологии и рисункам дифференциального окрашивания хромосом (рис. 1). По полученным ранее данным (Badaeva et al., 2004), исследованный нами образец k-1193 характеризуется наличием реципрокной транслокации, затрагивающей две спутничные хромосомы – 1U и 5U (на рис. 1 показаны стрелками).

С-дифференциальное окрашивание хромосом не выявило наличия чужеродного генетического материала в 5 из 20 исследованных линий: Л-2039/1, Л-2040/1, Л-2185/2, Л-2309/9, Л-2311/4 (табл. 2). В кариотипах 15 линий идентифицированы несколько типов замещений, дополненные хромосомы или фрагменты отдельных хромосом *Ae. columnaris*.

Кариотип линии Л-2308/5 состоял из 40 хромосом и характеризовался наличием замещения пары хромосом 6A на пару хромосом эгилопса, обозначенную нами $6Ae^1$. Хромосома 1D отсутствовала, но при этом была выявлена транслокация с участием хромосомы 4B. Методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (см. далее) данная транслокация была идентифицирована как T4BL-1D. Кариотип линии Л-2054/3 включал 41 хромосому; линия

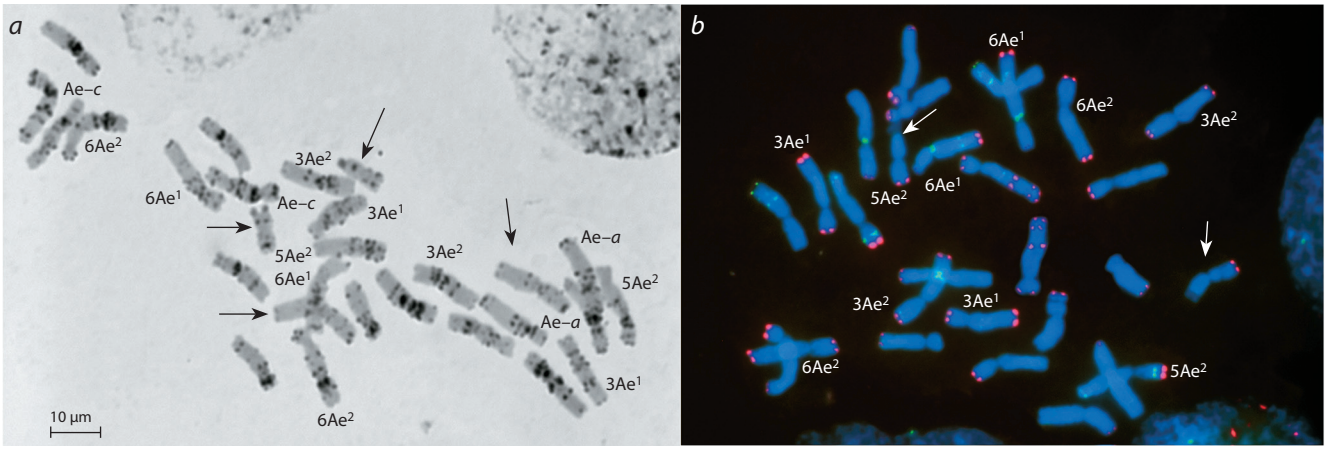


Fig. 1. C banding (*a*) and FISH (*b*) with probes pSc119.2 (red) and pAs1 (green) on metaphase plates of *Ae. columnaris*. Zhuk.

Chromosomes are designated according to the genetic classification defined in the present work. Chromosomes1U and 5U involved in reciprocal translocations are indicated with arrows. Scale bar 10 μm.

Table 2. Variants of alien introgression in the chromosome sets of the studied lines

Accession	The number of chromosomes	Chromosome set features
L-2308/5	40	6A(6Ae^1); nulli-1D; T4BL-1D
L-2054/3	41–42	6D(6Ae^1); disomic/ monosomic for 4B
L-32	42	3D(3Ae^1)
L-34	42	3D(3Ae^1)
L-2034/3–1	42	3D(3Ae^2), 5D(5Ae^2), 6A(6Ae^2), T6DL.6DS-Ae$^?$
L-2034/3–2	42	3D(3Ae^2) 6D(6Ae^{2del})
L-2304/1	42	5D(5Ae^2) 6D(6Ae^2)
L-2306/3	42	Disomic / monosomic substitution 6D/ 6Ae^1
L-2185/1	43–44	Monosomic / disomic addition chromosome 3Ae^1
L-2305/1	43	Monosomic addition chromosome Ae–*a*, genetic group was not determined
L-2307/1w	43	Disomic addition chromosome 6Ae^1; T4BL–1D
L-2307/1W	44	Disomic addition chromosome 6Ae^1; T4BL–1D, segregation for the presence or absence of 4B
L-2039/1	42	No alien genetic material detected
L-2040/1	42	No alien genetic material detected
L-2311/4	42	No alien genetic material detected
L-2309/9	42	No alien genetic material detected
L-2185/2	42	No alien genetic material detected
L-2310/1	42	Monosomic 6D/ 6Ae^1 substitution, 1D–terminal translocation
L-2081/3	42+1^t+2^a	Pair of unidentified acrocentrics (^{a}) Ae–*b*+ telocentric (^{t})Ae–*c*
L-2082/2	42+2^m+2^a	Two pairs of unidentified acrocentrics (^{a}) Ae–*b* and small metacentrics (^{m}) Ae–*c*

была моносомной по хромосоме 4B. В этой линии хромосомы 6D замещены на 6Ae^1, аналогично Л-2308/5.

В линиях Л-32 и Л-34 (2*n* = 42) обнаружен другой вариант замещения, включающий хромосому 3D. Геномная принадлежность чужеродной хромосомы не известна, в связи с чем ее обозначили 3Ae^1.

Образец Л-2034/3 (2*n* = 42) расщеплялся по типам замещений и, соответственно, был разделен на две отдельные линии: Л-2034/3-1 с тройным замещением по 3D-, 5D- и 6D-хромосомам (рис. 2, *г*), и Л-2034/3-2 с двойным замещением по хромосомам 3D и 6D. Хромосома, замещающая хромосому 6D, отличалась от таковой, выявленной в линиях Л-2308/5, Л-2054/3 и Л-2306/3. Логично предположить, что она происходит из другого генома, и ее обозначили 6Ae^2. На хромосоме 6Ae^2 линии Л-2034/3-2 терминальная половина длинного плеча была делетирована.

Следует отметить, что в этих линиях хромосома эгилопса, заместившая хромосому 3D, принадлежала к другому геному, в отличие от хромосомы $3Ae^1$ в линиях Л-32 и Л-34, и была обозначена как $3Ae^2$. Спектр замещений линии Л-2034/3-1 можно, соответственно, обозначить, как $3D(3Ae^2)$ $5D(5Ae^2)$ $6D(6Ae^2)$, а линии Л-2034/3-2 – $3D(3Ae^2)$ $6D(6Ae^{2del})$.

Линии Л-2304/1 и Л-2306/3 имели в своих кариотипах по 42 хромосомы. Линия Л-2304/1 (см. рис. 2, *а*) являлась носителем двойного замещения $5D(5Ae^2)$ $6D(6Ae^2)$, при этом хромосома $5Ae^2$ была идентична таковой, обнаруженной в линии Л-2034/3-2. В связи с тем что у родительской линии *Ae. columnaris* хромосомы 1U и 5U перестроены в результате транслокации (Badaeva et al., 2004) и существенно отличаются от $5Ae^2$, можно предположить, что хромосома $5Ae^2$ относится к X^c-геному.

Линии Л-2306/3 и Л-2310/1 ($2n$ = = 42) – моносомно замещенные по $6D/6Ae^1$ хромосомам. Линия Л-2310/1 также несла неидентифицированную транслокацию крупного блока гетерохроматина в терминальную часть длинного плеча 1D хромосомы.

Линии Л-2185/1, Л-2305/1, Л-2307/1w, Л-2307/1W, Л-2081/3, Л-2082/2 характеризовались наличием дополненных хромосом или их фрагментов – акро- и телоцентриков. Так, число хромосом в линии Л-2185/1 варьировало от 43 до 44 за счет добавления одной или двух хромосом эгилопса, соответствующих $3Ae^1$ (см. рис. 2, *б*). Кариотип линии Л-2305/1 ($2n = 43$) содержал одну добавочную хромосому эгилопса. Гомеологию этой хромосомы на текущем этапе исследования установить не удалось из-за отсутствия маркеров, специфичных для определенных гомеологических групп, и значительного отличия чужеродной хромосомы от хромосом мягкой пшеницы по морфологии и рисунку распределения С-блоков. В связи с этим хромосоме было присвоено условное обозначение Ae–*a*.

Линия Л-2307/1w ($2n = 43$) содержала моносомно дополненную хромосому $6Ae^1$, а линия Л-2307/1W ($2n$ = = 44) была дисомно дополненной по той же хромосоме. Следует отметить, что по рисунку дифференциального

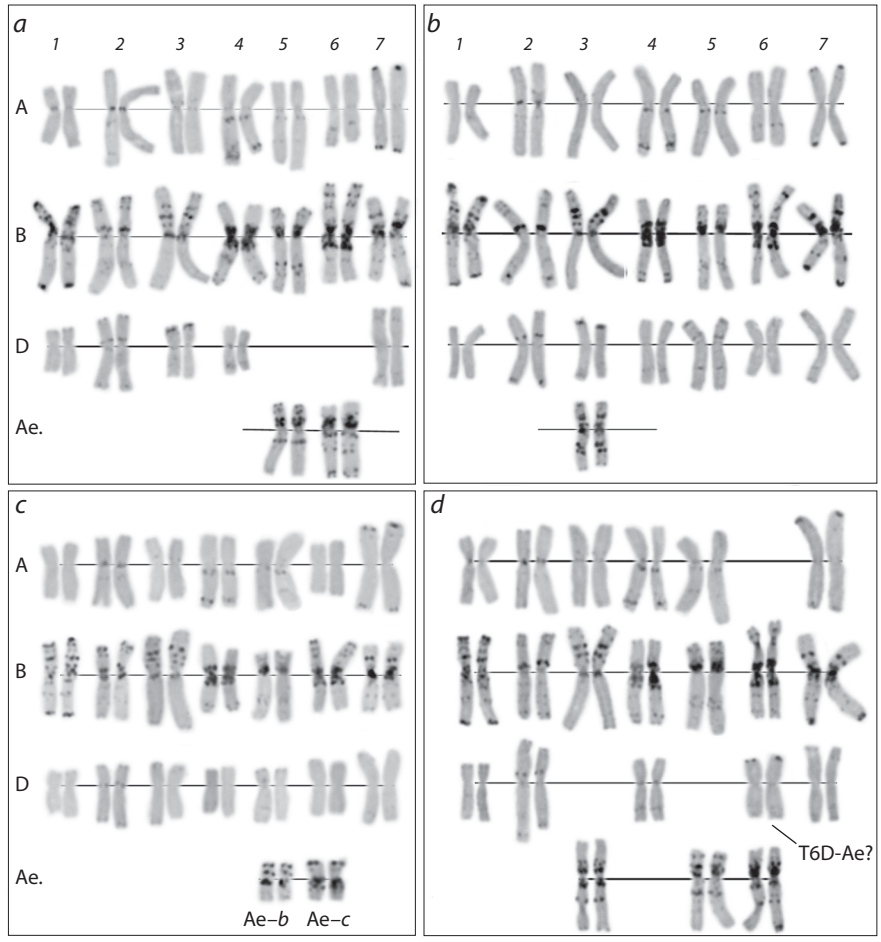


Fig. 2. Introgressions in wheat–Aegilops lines detected by C banding.

(*a*) The chromosome set of line L–2304/1. Chromosomes 5D и 6D are substituted by *Ae. columnaris* chromosomes: $5Ae^2$ and $6Ae^2$. (*b*) The chromosome set of line L–2185/1 with a pair of additional *Ae. columnaris* chromosomes $3Ae^1$. (*c*) The chromosome set of line L–2082/2, with two pairs of acrocentric *Ae. columnaris* chromosomes Ae-*b* and Ae-*c*. (*d*) The chromosome set of line L–2034/3–1 with a triple substitution of *Ae. columnaris* chromosomes $3Ae^2$, $5Ae^2$ и $6Ae^2$ for chromosomes 6A, 3D, and 5D.

окрашивания дополненные хромосомы были идентичны чужеродным хромосомам линий Л-2308/5, Л-2054/3, Л-2306/3 и, соответственно, их классифицировали как $6Ae^1$. У обеих линий также обнаружена транслокация T4BL-1D.

Кариотипы линий Л-2081/3 и Л-2082/2 содержали 45 или 46 хромосом: 42 хромосомы пшеницы, дополненные парой неидентифицированных акроцентрических хромосом и одним телоцентрическим фрагментом (42+2+1 хромосомы) в Л-2081/3, и двумя парами акроцентриков (42+2+2 хромосомы) в линии Л-2082/2 (рис. 2, *в*). Дополненные хромосомы были обозначены Ae–*b* и Ae–*c* соответственно.

Таким образом, цитогенетическое исследование гибридов пшеницы с *Ae. columnaris* показало, что линии в основном цитологически стабильны и несут от одной до трех пар хромосом эгилопса, дополняющих или замещающих хромосомы пшеницы. Всего в изученной выборке выявлено пять разных эгилопсных хромосом, а в двух линиях найдены акроцентрические или телоцентрические хромосомы, предположительно, образовавшиеся из неидентифицированных эгилопсных хромосом путем крупных делеций.

С целью более точной идентификации хромосом эгилопса была использована флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH).

Флуоресцентная *in situ* гибридизация. FISH в линиях Л-32 и Л-34 ($2n = 42$) не выявила хромосому 3D. Вместо нее обнаружена субметацентрическая хромосома с крупными сигналами pSc119.2 зонда в субтеломерных районах

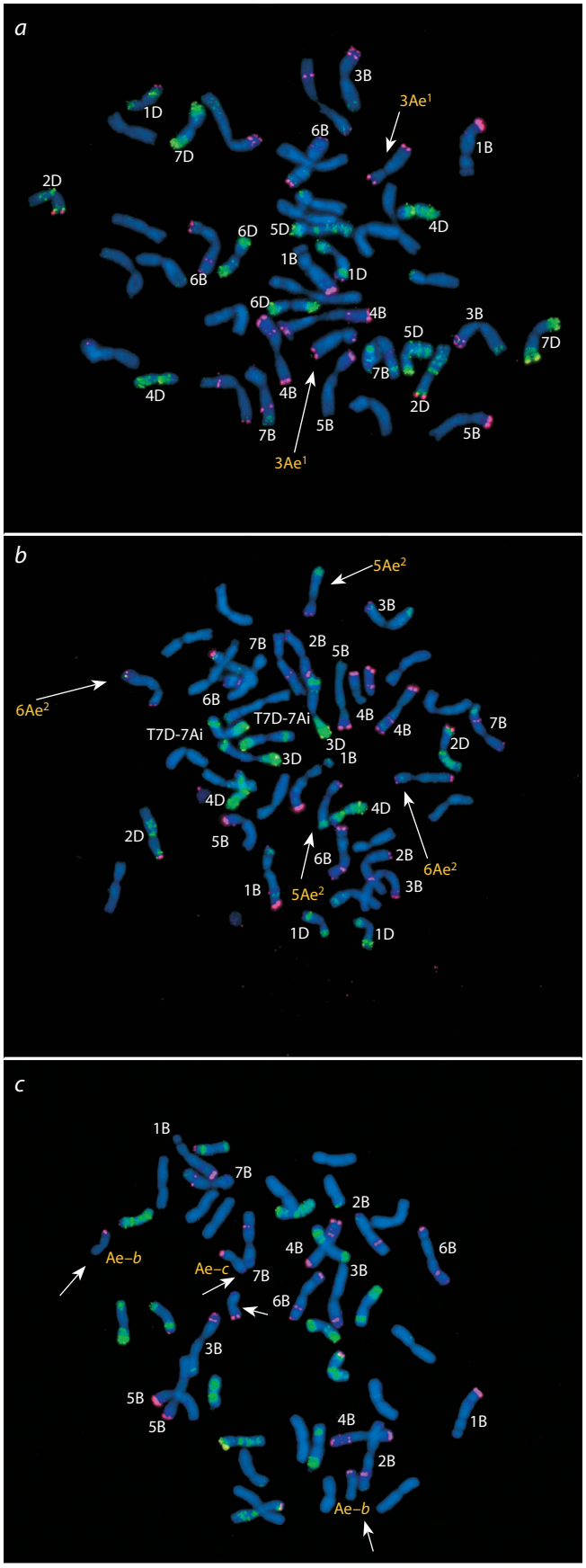


Fig. 3. Metaphase plates of *T. aestivum- Ae. columnaris* introgression lines after FISH with probes pSc119.2 (red) and pAs1 (green): (*a*) L–32, (*b*) L–2304/1, (*c*) L–2082/2.

Arrows indicate the chromosomes of *Ae. columnaris*.

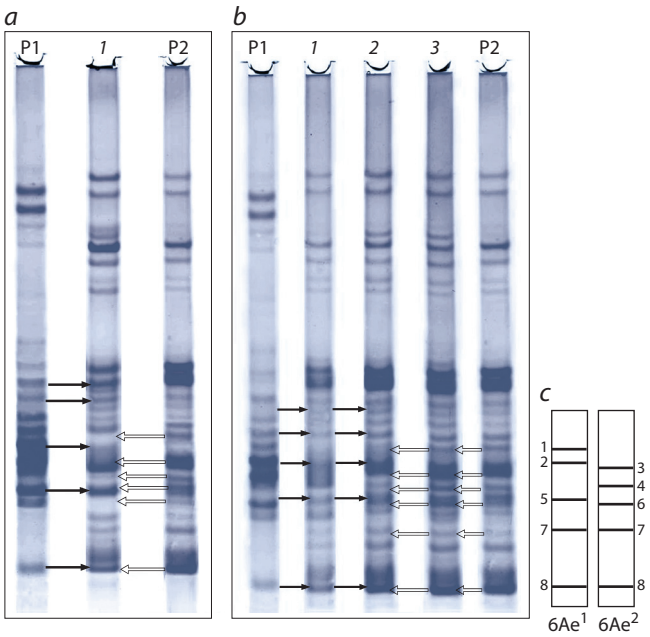


Fig. 4. The electrophoretic spectra of gliadins, confirming the replacement of chromosome 6D of *T. aestivum* (L–503) by a chromosome of homoeologous group 6 of *Ae. columnaris* in substitution lines (*a*) L–2310/1 and (*b*) L–2304/1. (*c*) The pattern of electrophoretic components of gliadin controlled by chromosomes $6Ae^1$ *и* $6Ae^2$ of *Ae. columnaris*.

Black arrows indicate gliadin components controlled by the group 6 chromosome of *Ae. columnaris*; white arrows, by 6D chromosome of *T. aestivum*. P1, *Ae. columnaris* (k–1193); P2, *T. aestivum* (L–503); *1*, the spectrum of the accession with disomic substitution; *2*, the spectrum of a heterozygote; *3*, the spectrum of an accession that is identical to the spectrum of *T. aestivum* with no substitution.

обоих плеч, обозначенная нами как $3Ae^1$ (рис. 3, *а*). Таким образом, было подтверждено наличие замещения хромосомы 3D на пару хромосом *Ae. columnaris* и определены особенности FISH-окрашивания чужеродной хромосомы. В линии Л-2185/1 ($2n = 43$) FISH показала наличие полного набора хромосом пшеницы и одной хромосомы эгилопса $3Ae^1$, сходной с таковой в линиях Л-32 и Л-34.

Гибридизация с зондами pSc119.2 и pAs1 подтвердила наличие двойного дисомного $5D(5Ae^2)$ $6D(6Ae^2)$ замещения у линии Л-2304/1 ($2n = 42$): чужеродные хромосомы $5Ae^2$ несли крупные pSc119.2 сигналы в субтеломерных районах короткого и длинного плеч, тогда как у хромосомы $6Ae^2$ в теломере короткого плеча выявлен крупный pSc119.2 сигнал, а в терминальной части длинного – сигнал pAs1 повтора (см. рис. 3, *б*). Так как у *Ae. columnaris* хромосом с таким рисунком гибридизации обнаружено не было (Badaeva et al., 2004), можно предположить, что $6Ae^2$ хромосома в линии Л-2304/1 несет небольшую терминальную транслокацию от хромосомы 6D.

Линия Л-2305/1 ($2n = 43$) была дополнена другой хромосомой эгилопса, условно обозначенной Ae–*a*. Она значительно отличалась от хромосом мягкой пшеницы по морфологии и рисунку распределения FISH-проб. Крупный сигнал pSc119.2 повтора располагался в теломере короткого плеча, а более слабый – в теломере длинного плеча Ae–*a*.

В двух родственных линиях, Л-2081/3 ($2n = 42+1+2$) и Л-2082/2 ($2n = 42+2+2$), хромосомный набор пшеницы был дополнен телоцентриками или акроцентриками, обра-

зовавшимися, предположительно, от хромосом эгилопса. Небольшая акроцентрическая хромосома Ae–*b*, присутствовавшая в обеих линиях, содержала четкий pSc119.2 сигнал в теломере только короткого плеча. В кариотипе линии Л-2082/2 была выявлена небольшая метацентрическая хромосома Ae–*c* с одним крупным и одним мелким теломерными сигналами (см. рис. 3, *в*). Телоцентрическая хромосома, обнаруженная в линии Л-2081/3 и содержащая только небольшой теломерный сигнал пробы pSc119.2, скорее всего, образовалась из хромосомы Ae–*c* в результате разрыва в перицентромерной области.

На основании сравнения результатов С-бэндинга и FISH можно предположить, что хромосома Ae–*c* могла образоваться в результате делеции основной части длинного плеча хромосомы, предположительно, 7U, тогда Ae–*b*, возможно, представляет собой фрагмент хромосомы $3Ae^1$. Точка разрыва, по-видимому, располагается на границе проксимального С-блока и эухроматинового фрагмента длинного плеча.

В линиях Л-2306/3 ($2n = 42$), Л-2307/1W ($2n = 44$), Л-2307/1w ($2n = 43$), Л-2308/5 ($2n = 40$) и Л-2054/3 ($2n = 41–42$) методом С-бэндинга идентифицирована транслокация, включающая хромосому 4B. Флуоресцентная гибридизация *in situ* с пробами pSc119.2 и pAs1 позволила идентифицировать другую хромосому – 1D, участвующую в данной перестройке, и уточнить структуру транслоцированной хромосомы. Оказалось, что она состоит из большей части хромосомы 1D и длинного плеча хромосомы 4B; точки разрывов находятся в районе дистального pAs1 сайта хромосомы 1D и в перицентромерном районе хромосомы 4B. Чужеродная хромосома $6Ae^1$, идентифицированная в кариотипах этих линий методом С-бэндинга, характеризовалась наличием pSc119.2 сигнала только в теломере длинного плеча, в прицентромерной области которого также наблюдался четкий сигнал pAs1 повтора.

В линии Л-2310/1 ($2n = 42$) методом С-бэндинга обнаружен необычный вариант окрашивания хромосомы 1D, содержащей крупный гетерохроматиновый сегмент в теломере длинного плеча. FISH-анализ показал наличие в этом же участке хромосомы четкого сайта pSc119.2 повтора, который у родительских сортов отсутствовал, таким образом, подтвердив наличие транслокации.

Электрофоретический анализ глиадинов. В связи с тем что гены, контролирующие запасные белки пшеницы, локализованы на хромосомах 1-й и 6-й гомеологических групп, у интрогрессивных линий Л-2310/1 и Л-2304/3, в которых цитологически были идентифицированы замещения по двум разным хромосомам 6Ae, дополнительно проведен анализ спектров запасных белков в сравнении с родительскими формами и определены аллели глиадинкодирующих локусов.

Обе линии были созданы на основе сорта мягкой пшеницы Л503, у которого генетический контроль электрофоретических компонентов глиадина описывается следующими аллелями глиадинкодирующих локусов: *Gli-A1*(*m*+*i*), *Gli-B1e*, *Gli-D1a*, *Gli-A2q*, *Gli-B2q*+*w*, *Gli-D2e* (Новосельская-Драгович и др., 2003). Локусы *Gli-A1* и *Gli-B2* могут быть представлены как одним (*Gli-A1m*, *Gli-B2q*), так и другим (*Gli-A1i*, *Gli-B2w*) аллелем. Материнская форма, использованная в скрещивании с эгилопсом, представляла собой один из четырех биотипов – *Gli-A1i*, *Gli-B1e*, *Gli-D1a*, *Gli-A2q*, *Gli-B2q*, *Gli-D2e* – без примеси других сортов или видов, т. е. по глиадинкодирующим локусам была генетически однородным материалом. Генетический контроль электрофоретических компонентов глиадина у *Ae. columnaris* не изучен.

Гибриды, у которых полностью или частично отсутствовали компоненты, контролируемые хромосомой 6D (некоторые электрофоретические компоненты, контролируемые локусами 6D и 6Ae, имеют одинаковую подвижность), и появлялись компоненты, характерные для спектра эгилопса, классифицировали как гомозиготы по замещению (рис. 4, *а*, *б*). Гибриды, в спектре которых присутствовали компоненты, кодируемые как хромосомой 6D, так и хромосомой эгилопса, и выявленные у гомозигот по замещению, классифицировали как гетерозиготы по замещению (см. рис. 4, *б*).

Показано, что все исследованные зерна интрогрессивной линии Л-2310/1 представляют собой генотипы с полным замещением хромосом 6D пшеницы на хромосому $6Ae^1$ эгилопса (см. рис. 4, *а*). В линии 2304/1 обнаружены как генотипы с полным 6D /$6Ae^2$ замещением, так и гетерозиготные формы (см. рис. 4, *б*).

Сравнение электрофоретических спектров глиадинов интрогрессивных линий Л-2310/1 и Л-2304/1 с замещениями хромосомы 6D на хромосомы 6-й гомеологической группы *Ae. columnaris* показало, что аллели глиадинкодирующих локусов у них отличаются (рис. 4, *в*), что подтверждает наличие в линиях Л-2310/1 и Л-2304/1 неидентичных хромосом 6Ae.

Обсуждение

Aegilops columnaris – потенциальный источник новых генов селекционно-ценных признаков для генетического улучшения пшеницы. Использование этого вида в селекционной практике осложняется тем, что классификация его хромосом не разработана, а происхождение до сих пор не установлено. По структуре кариотипа и рисункам дифференциального окрашивания хромосом *Ae. columnaris* значительно отличается от других диплоидных и полиплоидных видов *Aegilops*, обнаруживая некоторое сходство лишь с *Ae. triaristata* (Badaeva et al., 2004).

С другой стороны, отдельные хромосомы в кариотипе *Ae. columnaris* похожи на хромосомы таких видов, как *Ae. geniculata* Roth. и *Ae. biuncialis* Vis., U-геном которых унаследован от *Ae. umbellulata.* Однако эти виды настолько различаются структурой кариотипов, рисунками С-окрашивания хромосом и гибридизации проб 5S и 18S–26S рДНК и других маркеров, что говорить об их непосредственном родстве не представляется возможным (Badaeva et al., 2004). Видимо, в процессе эволюции геном от *Ae. umbellulata* претерпел настолько существенные изменения, что для установления генетических связей хромосом этого вида с хромосомами U-геномов других представителей рода *Aegilops* простого сравнения хромосом недостаточно.

Опубликованная в предыдущей работе (Badaeva et al., 2004) классификация хромосом *Ae. columnaris*, основанная на сравнении рисунков их окрашивания с хромосома-

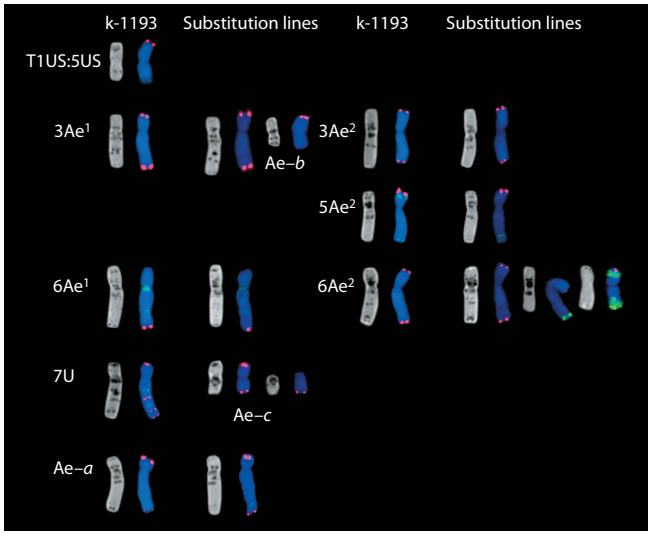


Fig. 5. Comparison of *Ae. columnaris* (k-1193) chromosomes with those found in introgression lines.

ми пшеницы, лишь частично соответствует полученным в настоящей работе данным. Так, например, хромосомы 3U и 5X соответствовали хромосомам $3Ae^1$ и $5Ae^2$ по нашей классификации, тогда как хромосома $6Ae^2$ ранее была классифицирована как 2U, $6Ae^1$ – как 3X, а идентифицированную нами $3Ae^2$ ранее относили к 7-й группе.

Способность хромосом разных видов злаков замещать хромосомы пшеницы в геноме гибридов считается одним из наиболее надежных методов определения их генетического родства (Моррис, Сирс, 1970). Именно этот подход мы использовали при создании классификации хромосом *Ae. columnaris*. На основании анализа спектров замещений в 15 линиях *Triticum aestivum* × *Ae. columnaris* были идентифицированы пять разных вариантов интрогрессии, т. е. всего из 14 хромосом эгилопса у изученных линий было представлено 5: $3Ae^1$, $3Ae^2$, $5Ae^2$, $6Ae^1$ и $6Ae^2$ (рис. 5). Еще одна хромосома (Ae–*a*) выявлена в линии 2305/1 в виде моносомного дополнения; определить соответствующую ей гомеологическую группу на данном этапе исследования невозможно.

Помимо анализа спектров замещений, для определения гомеологии хромосом видов семейства Triticeae можно использовать другие типы маркеров, в том числе молекулярно-цитогенетические. Одними из наиболее распространенных маркеров являются локусы 5S и 45S рРНК генов. У злаков основные локусы 45S рДНК располагаются на хромосомах 1, 5 и 6-й гомеологических групп, а локусы 5S рДНК – на хромосомах 1-й и 5-й групп (Dvořák et al., 1984, 1989). При этом известно, что у *Ae. umbellulata* – предка U-генома *Ae. columnaris* – кластеры рРНК генов находятся на хромосомах 1-й и 5-й групп (Badaeva et al., 1996). На основании этого две спутничные хромосомы *Ae. columnaris* были отнесены к U-геному, 1-й и 5-й гомеологическим группам, однако известно, что в кариотипе исследованного нами образца эти две хромосомы перестроены в результате реципрокной транслокации (см. рис. 1, *а*, *б*, отмечены стрелками). Ранее было показано, что специфический рисунок распределения зонда pSc119.2 с двумя четкими интерстициальными сайтами в длинном плече характеризует хромосому 7U диплоидных и полиплоидных видов *Aegilops* (Badaeva et al., 2004). Две хромосомы с аналогичным рисунком гибридизации выявлены и в кариотипе исследованной нами линии *Ae. columnaris*; вероятно, их следует классифицировать как 7U.

Исходя из описанного выше и основываясь на результатах анализа пшенично-эгилопсных замещенных линий и особенностях рисунков гибридизации доступных ДНК-зондов, на сегодняшний день представляется возможным определить гомеологию 8 из 14 хромосом *Ae. columnaris*: 1U, $3Ae^1$, $3Ae^2$, 5U, $5Ae^2$, $6Ae^1$, $6Ae^2$, 7U. Работы по определению гомеологических групп шести оставшихся хромосом в настоящее время продолжаются.

Acknowledgments

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research, project 15-04-00296.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Badaeva E.D., Amosova A.V., Samatadze T.E., Zoshchuk S.A., Shostak N.G., Chikida N.N., Zelenin A.V., Raupp W.J., Friebe B., Gill B.S. Genome differentiation in *Aegilops*. 4. Evolution of the U-genome cluster. Plant Syst. Evol. 2004;246:45-76. DOI 10.1007/s00606–003–0072–4.

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. DOI 10.1007/BF00985912.

Badaeva E.D., Friebe B., Gill B.S. Genome differentiation in *Aegilops*. 2. Physical mapping of 5S and 18S–26S ribosomal RNA gene families in diploid species. Genome. 1996;39(6):1150-1158. DOI 10.1139/g96-145.

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. DOI 10.1007/s10577–010–9151–x.

Bedbrook R.J., Jones J., O'Dell M., Thompson R.J., Flavell R.B. A molecular description of telomeric heterochromatin in *Secale* species. Cell. 1980;19:545-560.

Bushuk W., Zillman R.R. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. 1. Apparatus, method, and nomenclature. Can. J. Plant Sci. 1978;58:505-515.

Dvořák J., Lassner M.W., Kota R.S., Chen K.C. The distribution of the ribosomal RNA genes in the *Triticum speltoides* and *Elytrigia elongata* genomes. Can. J. Genet. Cytol. 1984;62(5):628-632.

Dvořák J., Luo M.-C., Yang Z.-L. Restriction fragment length polymorphism and divergence in the genomic regions of high and low recombination in self-fertilizing and cross-fertilizing *Aegilops* species. Genetics. 1998;148:423-434.

Dvořák J., Zhang H.-B., Kota R.S., Lassner M. Organization and evolution of the 5S ribosomal RNA gene family in wheat and related species. Genome. 1989;32(6):1003-1016.

Friebe B., Gill B.S. Chromosome banding and genome analysis in diploid and cultivated polyploid wheats. Methods in genome analysis in plants: their merits and piffals. Ed. P.P. Jauhar. N.Y.; L.; Tokyo: Boca Ration: CRC Press, 1996;39-60.

Kihara H. Considerations on the evolution and distribution of *Aegilops* species based on the analyser-method. Cytologia. 1954;19(4):336-357.

McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers W.J., Morris C., Appels R., Xia X.C. Catalogue of Gene Symbols for Wheat: 2010. Available at: http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/symbolClassList.jsp.

Metakovsky E.V. Gliadin allele identification in common wheat. 2. Catalogue of gliadin alleles in common wheat. J. Gen. Breed. 1991;45:325-344.

Metakovsky E.V., Novoselskaya A.Yu. Gliadin allele identification in common wheat I. Methodological aspects of the analysis of gliadin patterns by one dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. J. Gen. Breed. 1991;45:317-324.

Morris E.R., Sears E.R. Tsitogenetika pshenitsy i rodstvennykh form [Cytogenetics of wheat and its relatives]. Jakubziner M.M. (Ed.). Pshenitsa i ee uluchshenie [Wheat and wheat improvement]. Moscow, Kolos Publ., 1970;84-90. (in Russian)

Novosel'skaja A.Ju., Metakovskij E.V., Sozinov A.A. Investigation of polymorphisms of gliadin in some wheat varieties by the methods of one-dimensional and two-dimensional electrophoresis. Tsitologiya i genetika = Cytology and Genetics. 1983;17(5):45-50. (in Russian)

Novosel'skaja-Dragovich A.Ju. Genetics and genomics of wheat: storage proteins, ecological plasticity and immunity. Genetika = Genetics (Moscow). 2015;51(5):568-583. DOI 10.7868/S0016675815050045. (in Russian)

Novosel'skaja-Dragovich A.Ju., Krupnov V.A., Sajfulin R.A., Puhal'skij V.A. The dynamics of genetic diversity in Saratov cultivars of common wheat *Triticum aestivum* L. for gliadin coding loci over 80 years of scientific breeding. Genetika = Genetics (Moscow). 2003;39(10):1338-1346. (in Russian)

Rayburn A.L., Gill B.S. Isolation of a D-genome specific repeated DNA sequence from *Aegilops squarrosa*. Plant Mol. Biol. Report. 1986; 4(2):102-109.

Salina E.A., Egorova E.M., Adonina I.G., Dobrovol'skaja O.B., Budashkina E.B., Leonova I.N. DNA markers for genotyping lines of common wheat (*Triticum aestivum* L.) with genetic material of *Aegilops speltoides* Tausch. and *Triticum timopheevii* Zhuk. Vestnik VOGiS = The Herald of Vavilov Society for Geneticists and Breeding Scientists. 2008;12(4):620-628. (in Russian)

Salina E.A., Lim Y.K., Badaeva E.D., Shcherban A.B., Adonina I.G., Amosova A.V., Samatadze T.E., Vatolina T.Yu., Zoshchuk S.A., Leitch A.R. Phylogenetic reconstruction of *Aegilops* section Sitopsis and the evolution of tandem repeats in the diploids and derived wheat polyploids. Genome. 2006;49:1023-1035. DOI 10.1139/G06–050.

Schneider A., Linc G., Molnar-Lang M. Fluorescence *in situ* hybridization polymorphism using two repetitive DNA clones in different cultivars of wheat. Plant Breeding. 2003;122:396-400. DOI 10.1046/j.1439–0523.2003.00891.x.

Schneider A., Molnar I., Molnar-Lang M. Utilisation of *Aegilops* (goatgrass) species to widen the genetic diversity of cultivated wheat. Euphytica. 2008;163:1-19. DOI 10.1007/s10681–007–9624–y.

Shepherd K.W. Chromosomal control of endosperm proteins in wheat and rye. Proc. 3rd Int. Wheat Genet. Symp. Eds. K.W. Finlay, K.W. Sherherd. Canberra. Austral. Acad. Sci., 1968;86-96.

Sozinov A.A., Poperelya F.A. Polymorphism of prolamins and breeding. Vestnik Selskokhozyaystvennoy Nauki = Herald of Agricultural Sciences. 1979;10:21-34. (in Russian)

Van Slageren M.W. Wild Wheats: a monograph of *Aegilops* L. and *Amblyopyrum* (Jaub. et Spach) Eig (*Poaceae*). Wageningen: Wageningen Agricultural University and ICARDA, Aleppo, Syria, 1994.

Zhang P., Dundas I.S., McIntosh R.A., Xu S.S., Park R.F., Gill B.S., Friebe B. Wheat–Aegilops Introgressions. Alien Introgression in Wheat Cytogenetics, Molecular Biology, and Genomics. Ed. M. Molnar-Lang, C. Ceoloni, J. Dolžel. Springer International Publishing Switzerland, 2015;221-243. DOI 10.1007/978–3–319–23494–6.

Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):250-258
DOI 10.18699/VJ17.244

Гены сельскохозяйственных растений, модифицированные с помощью системы CRISPR/Cas

А.М. Короткова[1] ✉, С.В. Герасимова[1], В.К. Шумный[1, 2], 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

Система CRISPR/Cas – один из самых перспективных способов геномного редактирования. Этот доступный метод позволяет получать нетрансгенные растения с заданными модификациями, причем можно одновременно производить мутации в нескольких мишенях. Цель настоящего обзора – анализ опубликованных работ, в которых система CRISPR/Cas использована для модификации генов сельскохозяйственных растений, с тем чтобы оценить потенциал этой технологии как нового метода селекции растений. Для 45 сельскохозяйственных культур проведен поиск по сочетанию ключевого слова CRISPR с названием культуры (поиск осуществлялся в названиях, аннотациях и ключевых словах статей из журналов, индексируемых в базе данных Scopus). Среди 206 результатов поиска только 88 содержали описание экспериментальных работ, в которых использована система CRISPR/Cas. В этих работах описаны 145 генов-мишеней у 15 сельскохозяйственных культур, включая рис, у которого модифицировано наибольшее число генов – 78. Возможность получения модифицированных нетрансгенных растений продемонстрирована в большинстве работ. Однако в основном исследования были нацелены на апробацию метода или на изучение функций целевых генов, и лишь редактирование 37 генов связано с улучшением свойств растений. В обзоре представлена таблица-каталог данных генов. Основной используемый вариант модификации – нокаут генов, преимущественно негативных регуляторов роста и развития растений или факторов, определяющих чувствительность к патогенам. В большинстве случаев проверен фенотип модифицированных растений и показано наличие заданных изменений признаков. Однако ввиду того, что негативные регуляторы – это ограниченная группа генов растений, можно предположить, что CRISPR/Cas-направленный нокаут как способ улучшения сельскохозяйственных культур имеет определенные рамки. В связи с этим целесообразно расширение апробации CRISPR/Cas для получения более сложных модификаций в геномах культурных растений, таких как замена дефектных аллелей функциональными или вставка в геном целевых генов (в настоящее время для улучшения свойств сельскохозяйственных растений известны лишь единичные примеры таких модификаций). Другое важное условие для широкого практического использования системы геномного редактирования CRISPR/Cas в селекции – возможность применения ко многим сортам одного и того же вида. В опубликованных работах пока еще используется весьма ограниченное число модельных сортов/линий. Тем не менее, несмотря на описанные ограничения, необходимо подчеркнуть, что за короткий срок (3.5 года с момента опубликования первых работ по модификации генома растений с помощью системы CRISPR/Cas) достигнуты значительные успехи.

Ключевые слова: геномное редактирование; зерновые; каталог генов; новые методы селекции; направленный мутагенез; овощные; плодовые; растения.

Crop genes modified using CRISPR/Cas system

A.M. Korotkova[1] ✉, S.V. Gerasimova[1], V.K. Shumny[1, 2], E.K. Khlestkina[1, 2]

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

The CRISPR/Cas system is the most promising among genome editing tools. It can provide the development of modified nontransgenic plants with the possibility of simultaneous multiple targeted mutations. The purpose of this review is to analyze published papers describing the utilization of the CRISPR/Cas system for crop gene modification in order to assess the potential of this technology as a new plant breeding technique. The search for "CRISPR & crop name" within article titles, abstracts and keywords in the Scopus database was carried out for 45 crops. Among a total of 206 search results, only 88 have been recognized as original articles describing editing crop genes with the CRISPR/Cas system. A total of 145 target genes of 15 crops are described in these 88 articles, including rice with the largest number of genes modified (78 genes). In these studies, the ability to get transgene-free modified plants was widely demonstrated. However, in most cases research was aimed at the approbation of the technology or was to elucidate target gene function, while modification of just 37 target genes was related with crop improvement. We present here a catalogue of these genes. In most of these cases, modifications resulted in knockout of the genes such as negative growth and development regulators or negative regulators of plant resistance. In most cases, the phenotype of modified plants was assessed, and the presence of desired changes was shown. However, since the estimated number of "negative regulators" is limited in plant genomes, the CRISPR-directed gene knockout has a restricted potential for crop improvement. Intensive application of the CRISPR/Cas system for more complicate modifications such as replacement of defect alleles by functional ones or insertion of a desired gene is required (so far reports about such modifications are very rare in crops). In addition, to provide a basis for broad practical application of CRISPR/Cas-based genome editing, more cultivars of crop species should be involved in ongoing studies. Just a few genotypes of crop species have been used for gene modifications thus far. Nevertheless, in spite of the restrictions mentioned, essential success has

Received 16.02.2017
Accepted for publication 10.03.2017
© AUTHORS, 2017
A.M. Korotkova and S.V. Gerasimova equal contribution to manuscript preparation.

✉ e-mail: korotkova@bionet.nsc.ru

been achieved over a short period (3.5 years since the first publications on CRISPR/Cas application in plants).

Key words: cereals; gene catalogue; genome editing; fruits; new breeding tools; site-directed mutagenesis; plants; vegetables.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Короткова А.М., Герасимова С.В., Шумный В.К., Хлесткина Е.К. Гены сельскохозяйственных растений, модифицированные с помощью системы CRISPR/Cas. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):250-258. DOI 10.18699/VJ17.244

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Korotkova A.M., Gerasimova S.V., Shumny V.K., Khlestkina E.K. Crop genes modified using CRISPR/Cas system. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(2):250-258. DOI 10.18699/VJ17.244

В августе 2013 г. почти одновременно вышли пять работ, сообщающих о первых успешных результатах редактирования геномов растений с помощью системы CRISPR/Cas. Первые исследования продемонстрировали универсальность данной технологии и возможность ее успешного применения не только на модельных, но и на возделываемых видах растений, при использовании разных методов трансформации (Feng et al., 2013; Li et al., 2013; Nekrasov et al., 2013; Shan et al., 2013; Xie, Yang, 2013).

Система CRISPR/Cas – один из самых перспективных способов геномного редактирования. Ее достоинства – доступность; высокая производительность; простота тестирования нескольких нРНК (направляющих РНК) для каждого гена-мишени; возможность делать одновременно несколько двуцепочечных разрывов (основа для редактирования нескольких генов одновременно); возможность редактировать метилированные участки ДНК (что важно при использовании регуляторных районов в качестве мишеней); наконец, по эффективности получения мутаций в геномах растений эта система не уступает и даже превосходит более ранние системы редактирования (ZFNs и TALENs). Принцип системы CRISPR/Cas, ее достоинства, варианты получаемых модификаций и используемые механизмы для редактирования, а также различные аспекты ее применения у растений (стабильность отредактированных геномов, наследуемость внесенных в геном изменений, частота возможных ошибочных модификаций, способы получения модифицированных нетрансгенных растений, а также правовые вопросы практического применения этого способа получения новых форм сельскохозяйственных растений) детально изложены в недавно опубликованных обзорных статьях (Хлесткина, Шумный, 2016; Герасимова и др., 2017; Злобин и др., 2017).

Цель настоящего обзора – анализ опубликованных работ, в которых система CRISPR/Cas была использована для модификации генов сельскохозяйственных растений, с тем чтобы оценить достигнутые за 3.5 года (с момента первых публикаций по применению этой системы на растениях) успехи и перспективу внедрения данного метода в практическую селекцию для улучшения сельскохозяйственных растений. До сих пор оставалась нерешенной задача систематической каталогизации селекционно-значимых генов сельскохозяйственных культур, модифицированных с применением системы CRISPR/Cas. Настоящий обзор – важный шаг на этом пути.

Поиск проводился в названиях, аннотациях и ключевых словах статей из журналов, индексируемых в базе данных Scopus (www.scopus.com), по сочетанию ключевого слова CRISPR с названием культуры (последнее обновление найденных публикаций произведено нами 10.02.2017 г.). Дальнейший анализ найденных публикаций позволил выделить только статьи, содержащие результаты экспериментальных исследований, в которых использована система CRISPR/Cas. Избыток найденных статей (206) по сравнению с количеством опубликованных работ, непосредственно прменяющих CRISPR/Cas (88), связан с интенсивным появлением большого числа обзорных статей в этой области, а также с тем, что многие авторы активно упоминают данную систему в вводной и заключительных частях аннотаций своих оригинальных работ. Поиск проведен для 45 продовольственных, кормовых и технических культур: апельсин (4/1)[1], арбуз (1/1), батат (1/0), бобы (1/0), виноград (3/2), горох (2/0), грейпфрут (2/2), груша (3/0), капуста (3/1), картофель (12/3), кассава (1/0), кукуруза (19/10), лен (1/1), лук (1/0), люцерна (1/0), огурец (4/1), пшеница (14/4), рис (73/46), рожь (1/0), сахарный тростник (2/0), свекла (1/0), слива (1/0), соя (12/6), томат (17/7), фасоль (4/0), хлопок (6/0), яблоня (6/2), ячмень (9/1). При поиске не найдено результатов для следующих культур: банан, вика, вишня, гречиха, дыня, кофе, лимон, конопля, морковь, нут, овес, перец, подсолнечник, просо, рапс, редис, чеснок.

Таким образом, согласно анализу публикаций, представленных в Scopus, система CRISPR/Cas прошла практическую апробацию на 15 сельскохозяйственных культурах, включая зерновые (пшеница, рис, кукуруза, ячмень), овощные (капуста, томат, огурец) и плодово-ягодные (виноград, яблоня) культуры, цитрусовые (апельсин, грейпфрут), а также картофель, арбуз, лен и сою. Всего у них описано 145 генов-мишеней. Однако детальный анализ найденных работ показал, что в большинстве случаев проведенные исследования были нацелены на апробацию метода или/и на изучение функций целевых генов. Редактирование лишь 37 генов у 12 культур связано с улучшением свойств растений. Составлен каталог данных генов (таблица).

Из возможных вариантов модификаций чаще всего использовали нокаут генов (см. таблицу). Наиболее востребованными генами-мишенями в случае применения данного типа модификации были негативные регуляторы роста, потеря функциональности которых может привести к повышению продуктивности растений. Например, у риса были одновременно нокаутированы три негативных регулятора размера зерна – гены *GW2*, *GW5*, *TGW6*. Таким

[1] После каждой культуры в скобках указано: общее число найденных для нее статей/выявленные среди них оригинальные работы с использованием CRISPR/Cas.

Crop genes modified with the CRISPR/Cas system to improve agronomically important traits (according to publications indexed in Scopus; the last accession date Feb 10, 2017)

Target gene	Function of the encoded product	Modification	Desired trait	Cultivar/line name	Transformation method	Modified plants frequency	Transgene-free plants	Reference
			RICE					
ALS	A key enzyme for the biosynthesis of branched-chain amino acids (major targets for herbicides)	Simultaneous substitution of two amino acid residues	Resistance to herbicides including chlorsulfuron and bispyribac-sodium	Nipponbare	Biolistic callus transformation / *Agrobacterium*-mediated callus transformation	36/24	+	Sun et al., 2016
CSA	Negative regulator of photoperiod-sensitive genic male sterility	Knockout	Male sterility under short-day conditions (Pollination control technology for hybrid breeding)	9522 Kongyu131 Jiaoyou5B	*Agrobacterium*-mediated transformation	Up 69	+	Li et al., 2016c
DEP1	Regulator of inflorescence architecture and plant height	»	Dense erect panicle, semi-dwarf phenotype (increase of yield)*	Zhonghua 11	»	67.5	+	Li et al., 2016b
DEP1	Regulator of inflorescence architecture and plant height	»	»	–	»	–	–	Zheng et al., 2016
EPSPS	Key enzyme in the biosynthesis of aromatic amino acids	Replacement of the glyphosate-sensitive allele with a resistant one (exon replacement)	Resistance to herbicide glyphosate	Nipponbare	Biolistic callus transformation	2	+	Li et al., 2016a
ERF922	Negative regulator of rice blast resistance	Knockout	Rice blast resistance	Kuiku131	*Agrobacterium*-mediated callus transformation	42	+	Wang et al., 2016
Gn1a	Negative regulator of grain number	»	Enhanced grain number per panicle (increase of yield)	Zhonghua 11	»	42.5	+	Li et al., 2016b
GS3	Negative grain size regulator	»	Larger grain size (increase in grain yield), longer awns	Zhonghua 11	»	57.5	+	»
GS3 *Gn1a*	Negative grain size regulator and negative regulator of grain number	GS3 knockout and double knockout	Larger grain size, enhanced grain number per panicle**	Nanjing 9108 Wuyunjing 27 Yangjing 4227 Zhejing 22 Zhejing 88	»	Up 100	+	Shen et al., 2016
GW2 *GW5* *TGW6*	Negative grain weight regulators	Triple knockout	Increased grain weight (increase of yield)	LH422	»	Up 100	+	Xu et al., 2016

IPA1	Plant architecture regulator	Knockout	Low tiller numbers, few unproductive tillers, more grains per panicle, and thick and sturdy stems, (enhanced rice grain yield, lodging resistance)	Zhonghua 11	»	27.5	+	Li et al., 2016b
NRT1.1B	Nitrogen transporter	Single amino acid substitution	Increase in nitrogen use efficiency	»	*Agrobacterium*-mediated transformation using a modified Cas9 nuclease	2.7	–	Lu, Zhu, 2017
SLR1	Repressor of gibberellin response	Single amino acid substitution	Reduced plant height (increase of yield)	»	»	13.3	–	»
TMS5	Negative regulator of thermosensitive genic male sterility	Knockout	Thermosensitive mail sterility (Pollination control technology for hybrid breeding)	Zhenshan97B ZhongzheB TianfenfB YixiangB ReB HuahuiB HuanongB Yuejingsimiao Yuenongsimiao Wushansimiao GAS	*Agrobacterium*-mediated transformation	Up 94	+	Zhou et al., 2016
				MAIZE				
ALS2	A key enzyme for the biosynthesis of branched-chain amino acids (major targets for herbicides)	Replacement of the glyphosate-sensitive allele with a resistant one (replacement of part of the coding sequence)	Resistance to herbicide chlorsulfuron	Hybrid Hi-II line	Biolistic transformation of embryos (DNA/RNP)	0.4/2	–	Svitashev et al., 2015
ARGOS8	Negative regulator of ethylene responses	Promoter insertion and replacement (swap experiments)	High drought tolerance	PH184C	Biolistic transformation of embryos (DNA)	1	+	Shi et al., 2017
				WHEAT				
TaDEP1	Regulator of inflorescence architecture and plant height	Knockout	Reduced plant height (increase of yield)*	Kenong 199	Biolistic transformation of embryos (DNA)	2	+	Zhang et al., 2016
TaGASR7	Negative regulator of grain weight	Knockout of three copies	Reduced plant height (increase of yield)	Bobwhite Kenong 199	»	Up 5	–	»
TdGASR7	»	Knockout of two copies	»	Shimai11, Yumai4	»	Up 1.5	–	»
TaGW2	»	Knockout of three copies	»	Kenong 199	»	1.1	+	»

End of table

Target gene	Function of the encoded product	Modification	Desired trait	Cultivar/line name	Transformation method	Modified plants frequency	Transgene-free plants	Reference
TaGW2	Negative regulator of grain weight	Knockout of three copies	Enhanced grain weight	Kenong 199	Biolistic transformation of embryos (DNA/RNP)	1/0.21	+	Liang et al., 2017
TaLOX2	Lipoxygenase	Knockout	Potential improvement of bread-making properties***	»	Biolistic transformation of embryos (DNA)	9.5	+	Zhang et al., 2016
TaMLO-A1	Negative regulator of resistance to powdery mildew	»	Increased resistance to powdery mildew	»	»	5.6	–	Wang et al., 2014
			BARLEY					
HvPM19	ABA-inducible plasma membrane protein	Knockout of two copies	Shortening of grain dormancy	Golden Promise	*Agrobacterium*-mediated transformation	10 и 23	+	Lawrenson et al., 2015
			SOYBEAN					
ALS1	A key enzyme for the biosynthesis of branched-chain amino acids (major targets for herbicides)	Replacement of the glyphosate-sensitive allele with a resistant one	Resistance to herbicide chlorsulfuron	93B86	Biolistic transformation of embryos	0.4	–	Li et al., 2015
Rj4	Negative regulator of nodulation	Knockout	Induction of nodulation	Hill	*Agrobacterium*-mediated transformation	No data	–	Tang et al., 2016
			POTATO					
ALS1	Key enzyme in the biosynthesis of branched-chain amino acids (major targets for herbicides)	Nucleotide substitutions	Resistance to herbicide chlorsulfuron	Désirée MSX914-10	*Agrobacterium*-mediated transformation	No data	–	Butler et al., 2016
GBSS	Granule-bound starch synthase	Knockout of four alleles	Increase in the amylopectin/amylose ratio (Change of starch properties)	Kuras	PEG-mediated protoplast transfection	2.2–11.6	+	Andersson et al., 2017
			TOMATO					
CLV2, CLV3 FAB	Signal peptides involved in plant development	Knockout	Emergence of additional flowers in the inflorescence, fasciation, increased fruit size (increase of productivity)	M82	*Agrobacterium*-mediated transformation	–	–	Xu et al., 2015
SlRRA3a	Arabinosyltransferase (modifies CLV3, which controls the development of the meristem and inflorescence morphology)	»						

SP5G	Negative regulator of flowering, growth and plant architecture	Knockout	Early flowering (photoperiod-independent), early yield (determinant type)	M82 (LA3475) Sweet 100	*Agrobacterium*-mediated transformation	No data	+	Soyk et al., 2016
SlAGL6	Negative parthenocarpy regulator	»	Parthenocarpy, increased yield under heat stress	MP-1	»	–	+	Klap et al., 2016
				CUCUMBER				
eIF4E	Negative regulator of virus resistance	Knockout	Increased resistance to viral diseases	Ilan	*Agrobacterium*-mediated transformation	60	+	Chandrasekaran et al., 2016
				GRAPES				
MLO-1	Negative regulator of resistance to powdery mildew	Knockout	****	Chardonnay	PEG-mediated protoplast transfection	0.1	–	Malnoy et al., 2016
				APPLE				
DIMP-1 *DIMP-2* *DIMP-3*	Negative regulator of resistance to fire blight disease	Knockout	****	Golden delicious	PEG-mediated protoplast transfection	6.7 3.3 6.9	–	Malnoy et al., 2016
				GRAPEFRUIT				
CsLOB1	Negative regulator of resistance to citrus canker	Knockout	Increased resistance to citrus canker	Duncan	*Agrobacterium*-mediated transformation	Up 90	–	Jia et al., 2017
				FLAX				
EPSPS	A key enzyme for biosynthesis of aromatic amino acids	The replacement of the glyphosate-sensitive allele with a resistant one (change of two amino acid residues)	Resistance to herbicide glyphosate	Not specified	PEG-mediated protoplast transfection by using the CRISPR system and the editing of the oligonucleotide matrix	0.15	–	Sauer et al., 2016

Ta, *Triticum aestivum*
Td, *Triticum durum*
RNP, ribonucleoprotein complex
* Contrasting phenotypes were observed depending on the mutations.
** Instead of the expected increase in yield, most of the genotypes showed a decrease (due to a decrease in the number of productive shoots). In three modified lines, yields increased by 3–7 %.
*** Phenotype is not described in the work. The potential effect is indicated based on the analysis of literature data (Permyakova et al., 2010).
**** The effectiveness of modification was checked at the level of protoplasts. Regenerated plants were not produced in the study. The presumed effect is increased resistance (Malnoy et al., 2016).

образом, проведено CRISPR/Cas-пирамидирование трех нокаутированных генов, что позволило достичь значительного удлинения зерна, по сравнению с нокаутом меньшего числа генов (Xu et al., 2016a). Повышения массы зерна гексаплоидной и тетраплоидной пшениц удалось добиться за счет нокаута соответственно трех и двух гомеологичных копий гена *GASR7* (негативный регулятор массы зерна) (Zhang et al., 2016).

Увеличение массы зерна и повышенная озерненность требуют устойчивости к полеганию, которая обеспечивается низкорослостью или прочностью стебля. Например, у риса и пшеницы удалось добиться снижения высоты растения за счет нокаута по гену *DEP1* (Li et al., 2016b; Zhang et al., 2016).

Нокаут четырех генов, разных по своим функциям, но потенциально так или иначе связанных с продуктивностью, осуществлен у сорта риса (Li et al., 2016b). Среди генов-мишеней были: негативный регулятор озерненности *Gn1a*; ген *DEP1*, упомянутый выше (нокаут по нему не только снижает высоту растения, но также приводит к формированию плотной прямостоячей метелки); негативный регулятор размера зерна *GS3*; регулятор архитектуры растения *IPA1* (нокаут по нему должен приводить к снижению интенсивности кущения, уменьшению числа непродуктивных побегов, повышенной озерненности, утолщению и прочности стеблей). В дальнейшем у семи сортов риса были получены нокаутные генотипы по *GS3*, а также двойные нокауты *Gn1a* + *GS3*. Несмотря на то что у растений, нокаутных по *GS3*, было увеличено зерно, а у двойных нокаутов еще и повышена озерненность, продуктивность повышалась (на 3–7 %) лишь у трех полученных вариантов, тогда как у семи – неожиданно снижалась вследствие уменьшения числа продуктивных побегов (Shen et al., 2016).

Как показал ряд работ, одна из перспективных областей применения CRISPR/Cas-направленного нокаута генов – повышение устойчивости растений к воздействию фитопатогенов. Мишенями в данном случае служат гены, обусловливающие чувствительность к заболеваниям. Например, нокаут гена *ERF922* риса позволил получить формы, устойчивые к пирикуляриозу (Wang et al., 2016), а нокаут *TaMLO-A1* – устойчивость пшеницы к мучнистой росе (Wang et al., 2014).

Успешный пример CRISPR/Cas-направленного нокаута – получение форм с контролируемой мужской стерильностью для дальнейшего использования в гибридной селекции. Например, у 11 линий риса достигнут нокаут негативного регулятора термочувствительной генной мужской стерильности (ген *TMS5*). Получены нетрансгенные модифицированные формы, фертильные при оптимальной температуре, но полностью стерильные при температуре 28 °С, что позволит контролировать процесс самоопыления при использовании данных линий в гибридной селекции (Zhou et al., 2016). В работе (Li et al., 2016c) от трех сортов риса получены нетрансгенные линии, нокаутные по гену *CSA* – негативному регулятору фотопериод-чувствительной генной мужской стерильности. При выращивании в условиях короткого дня достигается стерильность пыльцы, тогда как в условиях длинного дня растения фертильны.

CRISPR/Cas-направленный нокаут генов также перспективен для улучшения признаков качества и технических характеристик сырья. Например, у картофеля нокаут гена *GBSS*, кодирующего фермент биосинтеза крахмала, гранул-связанную крахмалсинтазу, приводит к изменению свойств крахмала за счет сдвига в нем соотношения количества линейных (амилоза) и разветвленных (амилопектин) полисахаридов в пользу последних (Andersson et al., 2017). Крахмал с высоким содержанием амилопектина дает гели повышенной оптической прозрачности, устойчивости при центрифугировании, а также демонстрирует повышение максимальной и конечной температуры желатинизации и измененные реологические свойства (Хлесткин и др., 2017).

Широкое использование на ранних этапах апробации системы CRISPR/Cas именно нокаута генов связано с тем, что это наиболее простой и доступный способ модификации. Наличие достаточно разнообразных генов-мишеней, негативно влияющих на хозяйственно ценные признаки, также способствовало интенсивному применению данного подхода. Однако негативные регуляторы – это все-таки ограниченная группа генов растений. Выйти за рамки CRISPR/Cas-направленного нокаута удалось в нескольких работах. Например, произведенная однонуклеотидная замена в гене *NRT1.1B*, кодирующем транспортер азота, позволила повысить эффективность усвоения азота, а замена в гене *SLR1* (репрессор ответа на гиббереллин) привела к получению низкорослого фенотипа (Lu, Zhu, 2017). Также модификации генов использованы для повышения устойчивости растений к гербицидам. Замена определенных аминокислотных остатков генов *ALS* риса (Sun et al., 2016), сои (Li et al., 2015), кукурузы (Svitashev et al., 2015), картофеля (Butler et al., 2016) повышала устойчивость к гербициду хлорсульфурону. Замена чувствительного к глифосату аллеля гена *EPSPS* на устойчивый позволила повысить его устойчивость к данному гербициду льна (Sauer et al., 2016) и риса (Li et al., 2016a).

Вместе с оптимизацией методик для различных вариантов CRISPR/Cas-направленной модификации генов актуально и накопление знаний о структурно-функциональной организации хозяйственно ценных генов и отличий их аллельных вариантов, с целью подбора новых мишеней для редактирования. Еще одно важное условие для широкого практического применения системы CRISPR/Cas в селекции – возможность ее приложения если не к любому, то ко многим сортам одного и того же вида. В опубликованных работах (см. таблицу) пока еще используется ограниченное число модельных сортов/линий. Наибольший прогресс наблюдается в исследованиях на рисе, у которого в геномное редактирование вовлечены уже более 20 сортов. Несмотря на то что проблема генотип-зависимой эффективности культивирования растений *in vitro* была известна и ранее, с появлением технологии CRISPR/Cas она обостряется, так как представляет собой, пожалуй, наиболее серьезное препятствие на пути широкого применения этой технологии как способа селекции растений.

Наблюдаемая частота полученных мутантных растений (см. таблицу) очень сильно варьировала и зависела от ряда факторов – вида растений, генотипа, мишени, метода трансформации. В отдельных случаях (на рисе) удавалось

достичь 100 % частоты получения мутантных растений (Shen et al., 2016; Xu et al., 2016).

Следует отметить, что в большинстве представленных работ продемонстрирована возможность получения модифицированных растений, свободных от служебных конструкций (transgene clean или transgene-free) (см. таблицу). Это достигалось в основном за счет независимого наследования модифицированных генов и локусов со встроенной служебной конструкцией. Для вегетативно размножаемых гетерозиготных форм (например, картофеля) данный способ не подходит, поэтому для получения модифицированных нетрансгенных растений в таких случаях используют векторы для транзиентной экспрессии с доставкой в ядро растительной клетки с помощью трансфекции протопластов (именно такой способ избран M. Andersson с коллегами (2017) для модификации гена *GBSS* картофеля), агроинфильтрации или биобаллистики (см. таблицу). Временная экспрессия нередко служит удобным способом относительно быстро и просто оценить эффективность разработанных конструкций, а также позволяет сразу получить модифицированные растения, свободные от служебных конструкций.

Acknowledgments

This study was supported by the Russian Science Foundation, project 16-14-00086.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Andersson M., Turesson H., Nicolia A., Fält A.-S., Samuelsson M., Hofvander P. Efficient targeted multiallelic mutagenesis in tetraploid potato (*Solanum tuberosum*) by transient CRISPR-Cas9 expression in protoplasts. Plant Cell Rep. 2017;36:117-128. DOI 10.1007/s00299-016-2062-3.

Butler N.M., Baltes N.J., Voytas D.F., Douches D.S. Geminivirus-mediated genome editing in potato (*Solanum tuberosum* L.) using sequence-specific nucleases. Front Plant Sci. 2016;7:1045. DOI 10.3389/fpls.2016.01045.

Chandrasekaran J., Brumin M., Wolf D., Leibman D., Klap C., Pearlsman M., Sherman A., Arazi T., Gal-On A. Development of broad virus resistance in non-transgenic cucumber using CRISPR/Cas9 technology. Mol. Plant Pathol. 2016;17:1140-1153. DOI 10.1111/mpp.12375.

Feng Z., Zhang B., Ding W., Liu X., Yang D.L., Wei P., Cao F., Zhu S., Zhang F., Mao Y., Zhu J.K. Efficient genome editing in plants using a CRISPR/Cas system. Cell Res. 2013;23:1229-1232. DOI 10.1038/cr.2013.11.

Gerasimova S.V., Khlestkina E.K., Kochetov A.V., Shumny V.K. Genome editing system CRISPR/CAS9 and peculiarities of its application in monocots. Fiziologiya rasteniy = Plant Physiology (Moscow). 2017;64:92-108. DOI 10.7868/S0015330317010079. (in Russian)

Jia H., Zhang Y., Orbović V., Xu J., White F.F., Jones J.B., Wang N. Genome editing of the disease susceptibility gene *CsLOB1* in citrus confers resistance to citrus canker. Plant Biotechnol. J. 2017. DOI 10.1111/pbi.12677.

Khlestkin V.K., Peltek S.E., Kolchanov N.A. Target genes for development of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars with desired starch properties (review). Selskokhozyaystvennaya Biologiya = Agricultural Biology. 2017;52(1):25-36. DOI 10.15389/agrobiology.2017.1.25eng. (in Russian)

Khlestkina E.K., Shumny V.K. Prospects for application of breakthrough technologies in breeding: The CRISPR/Cas9 system for plant genome editing. Russian Journal of Genetics. 2016;52(7): 676-687. DOI 10.7868/S0016675816070055. (in Russian)

Klap C., Yeshayahou E., Bolger A.M., Arazi T., Gupta S.K., Shabtai S., Usadel B., Salts Y., Barg R. Tomato facultative parthenocarpy results from Sl *AGAMOUS-LIKE 6* loss of function. Plant Biotechnol. J. 2016. DOI 10.1111/pbi.12662.

Lawrenson T., Shorinola O., Stacey N., Li C., Østergaard L., Patron N., Uauy C., Harwood W. Induction of targeted, heritable mutations in barley and *Brassica oleracea* using RNA-guided Cas9 nuclease. Genome Biol. 2015;16:258. DOI 10.1186/s13059-015-0826-7.

Li J., Meng X., Zong Y., Chen K., Zhang H., Liu J., Li J., Gao C. Gene replacements and insertions in rice by intron targeting using CRISPR-Cas9. Nat. Plant. 2016a;2:16139. DOI 10.1038/nplants.2016.139.

Li J.F., Norville J.E., Aach J., McCormack M., Zhang D., Bush J., Church G.M., Sheen J. l. Multiplex and homologous recombination-mediated genome editing in *Arabidopsis* and *Nicotiana benthamiana* using guide RNA and Cas9. Nat. Biotechnol. 2013;31:688-691. DOI 10.1038/nbt.2654.

Li M., Li X., Zhou Z., Wu P., Fang M., Pan X., Lin Q., Luo W., Wu G., Li H. Reassessment of the four yield-related genes Gn1a, DEP1, GS3, and IPA1 in rice using a CRISPR/Cas9 system. Front Plant Sci. Frontiers. 2016b;7:377. DOI 10.3389/fpls.2016.0037.

Li Q., Zhang D., Chen M., Liang W., Wei J., Qi Y., Yuan Z. Development of japonica photo-sensitive genic male sterile rice lines by editing carbon starved anther using CRISPR/Cas9. J. Genet. Genomics. 2016c;43:415-419. DOI 10.1016/j.jgg.2016.04.011.

Li Z., Liu Z.-B., Xing A., Moon B.P., Koellhoffer J.P., Huang L., Ward R.T., Clifton E., Falco S.C., Cigan A.M. Cas9-guide RNA Directed genome editing in soybean. Plant Physiol. 2015;169:960-970. DOI 10.1104/pp.15.00783.

Liang Z., Chen K., Li T., Zhang Y., Wang Y., Zhao Q., Liu J., Zhang H., Liu C., Ran Y., Gao C. Efficient DNA-free genome editing of bread wheat using CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein complexes. Nat. Commun. 2017;8:14261. DOI 10.1038/ncomms14261.

Lu Y., Zhu J.-K. Precise editing of a target base in the rice genome using a modified CRISPR/Cas9 system. Mol. Plant. 2017. DOI 10.1016/j.molp.2016.11.013.

Malnoy M., Viola R., Jung M.-H., Koo O.-J., Kim S., Kim J.-S., Velasco R., Kanchiswamy C.N. DNA-Free genetically edited grapevine and apple protoplast using CRISPR/Cas9 ribonucleoproteins. Frontiers in Plant Sci. 2016;7:1904. DOI 10.3389/fpls.2016.01904.

Nekrasov V., Staskawicz B., Weigel D., Jones J.D., Kamoun S. Targeted mutagenesis in the model plant *Nicotiana benthamiana* using Cas9 RNA-guided endonuclease. Nat. Biotechnol. 2013;31:691-693. DOI 10.1038/nbt.2655.

Permiakova M.D., Trufanov V.A., Pshenichnikova T.A., Ermakova M.F. Role of lipoxygenase in the determination of wheat grain quality. Prikl. Biokhim. Mikrobiol. = Applied Biochemistry and Microbiology. 2010;46(1):96-102. (in Russian)

Sauer N.J., Narváez-Vásquez J., Mozoruk J., Miller R.B., Warburg Z.J., Woodward M.J., Mihiret Y.A., Lincoln T.A., Segami R.E., Sanders S.L., Walker K.A., Beetham P.R., Schöpke C.R., Gocal G.F. Oligonucleotide-mediated genome editing provides precision and function to engineered nucleases and antibiotics in plants. Plant Physiol. 2016;170:1917-1928. DOI 10.1104/pp.15.01696.

Shan Q., Wang Y., Li J., Zhang Y., Chen K., Liang Z., Zhang K., Liu J., Xi J.J., Qiu J.L., Gao C. Targeted genome modification of crop plants using a CRISPR-Cas system. Nat. Biotechnol. 2013;31:686-688. DOI 10.1038/nbt.2650.

Shen L., Wang C., Fu Y., Wang J., Liu Q., Zhang X., Yan C., Qian Q., Wang K. QTL editing confers opposing yield performance in different rice varieties. J. Integr. Plant Biol. 2016. DOI 10.1111/jipb.12501.

Shi J., Gao H., Wang H., Lafitte H.R., Archibald R.L., Yang M., Hakimi S.M., Mo H., Habben J.E. ARGOS8 variants generated by CRISPR-Cas9 improve maize grain yield under field drought stress conditions.

Plant Biotechnol. J. 2017;15:207-216. DOI 10.1111/pbi.12603.

Soyk S., Müller N.A., Park S.J., Schmalenbach I., Jiang K., Hayama R., Zhang L., Van Eck J., Jiménez-Gómez J.M., Lippman Z.B. Variation in the flowering gene SELF PRUNING 5G promotes day-neutrality and early yield in tomato. Nat. Genet. 2016;49:162-168. DOI 10.1038/ng.3733.

Sun Y., Zhang X., Wu C., He Y., Ma Y., Hou H., Guo X., Du W., Zhao Y., Xia L. Engineering herbicide-resistant rice plants through CRISPR/Cas9-mediated homologous recombination of acetolactate synthase. Mol. Plant. 2016;628-631. DOI 10.1016/j.molp.2016.01.001.

Svitashev S., Young J.K., Schwartz C., Gao H., Falco S.C., Cigan A.M. Targeted mutagenesis, precise gene editing, and site-specific gene insertion in maize using Cas9 and guide RNA. Plant Physiol. 2015; 169:931-945. DOI 10.1104/pp.15.00793.

Tang F., Yang S., Liu J., Zhu H. Rj4, a Gene controlling nodulation specificity in soybeans, encodes a thaumatin-like protein but not the one previously reported. Plant Physiol. 2016;170:26-32. DOI 10.1104/pp.15.01661.

Wang F., Wang C., Liu P., Lei C., Hao W., Gao Y., Liu Y.G., Zhao K. Enhanced rice blast resistance by CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis of the ERF transcription factor gene OsERF922. PLoS ONE. 2016;11:e0154027. DOI. 10.1371/journal.pone.0154027.

Wang Y., Cheng X., Shan Q., Zhang Y., Liu J., Gao C., Qiu J.L. Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. Nat. Biotechnol. 2014;32:947-951. DOI 10.1038/nbt.2969.

Xie K., Yang Y. RNA-guided genome editing in plants using a CRISPR-Cas system. Mol. Plant. 2013;6:1975-1983. DOI 10.1093/mp/sst119.

Xu C., Liberatore K.L., MacAlister C.A., Huang Z., Chu Y.-H., Jiang K., Brooks C., Ogawa-Ohnishi M., Xiong G., Pauly M., Van Eck J., Matsubayashi Y., van der Knaap E., Lippman Z.B. A cascade of arabinosyltransferases controls shoot meristem size in tomato. Nat. Genet. 2015;47:784-792. DOI 10.1038/ng.3309.

Xu R., Yang Y., Qin R., Li H., Qiu C., Li L., Wei P., Yang J. Rapid improvement of grain weight via highly efficient CRISPR/Cas9-mediated multiplex genome editing in rice. J. Genet. Genomics. 2016; 43:529-532. DOI 10.1016/j.jgg.2016.07.003.

Zhang Y., Liang Z., Zong Y., Wang Y., Liu J., Chen K., Qiu J.-L., Gao C. Efficient and transgene-free genome editing in wheat through transient expression of CRISPR/Cas9 DNA or RNA. Nat. Commun. 2016;7:12617. DOI. 10.1038/ncomms12617.

Zheng X., Yang S., Zhang D., Zhong Z., Tang X., Deng K., Zhou J., Qi Y., Zhang Y. Effective screen of CRISPR/Cas9-induced mutants in rice by single-strand conformation polymorphism. Plant Cell Rep. 2016;35:1545-1554. DOI 10.1007/s00299-016-1967-1.

Zhou H., He M., Li J., Chen L., Huang Z., Zheng S., Zhu L., Ni E., Jiang D., Zhao B., Zhuang C. Development of commercial thermosensitive genic male sterile rice accelerates hybrid rice breeding using the CRISPR/Cas9-mediated TMS5 editing system. Sci. Rep. 2016;6:37395. DOI 10.1038/srep37395.

Zlobin N.E., Ternovoy V.V., Grebenkina N.A., Taranov V.V. Making complex things simpler: modern tools to edit the plant genome. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(1):104-111. DOI 10.18699/VJ17.228. (in Russian)

Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):259-268
DOI 10.18699/VJ17.245

Синапсис и рекомбинация аутосом и половых хромосом у двух видов крачек (Sternidae, Charadriiformes, Aves)

А.П. Лисачев[1] ✉, Л.П. Малиновская[1, 2] ✉, А.В. Друзяка[3], П.М. Бородин[1, 2], А.А. Торгашева[1]

[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
[3] Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

Интенсивность мейотической рекомбинации и закономерности распределения точек кроссинговера вдоль хромосом значительно варьируют между видами животных, в том числе близкородственными. Предложено несколько гипотез об адаптивном значении этих различий и их эволюции. Высказаны предположения о том, что рекомбинационные характеристики видов обусловлены филогенетической историей видов и их экологией. Однако большая часть исходных данных получена на млекопитающих, у которых характеристики рекомбинации находятся под влиянием значительной кариологической изменчивости. В этой связи изучение характеристик рекомбинации у таксонов с более стабильными кариотипами, таких как рептилии и птицы, представляется актуальным. В данной работе использовали метод флуоресцентной иммунолокализации белка бокового элемента синаптонемного комплекса (SYCP3), белков центромеры и белка мисматч-репарации MLH1, маркирующего сайты кроссинговера, на препаратах распластанных профазных ооцитов для изучения особенностей синапсиса и рекомбинации у двух видов птиц – черной крачки (*Chlidonias niger*) и речной крачки (*Sterna hirundo*). Мы впервые охарактеризовали кариотип *Ch. niger* (2*n* = 74, FN = 94), уточнили описание кариотипа *S. hirundo* (2*n* = 68, FN = 90) и идентифицировали предположительные перестройки, отличающие кариотипы данных видов друг от друга. Обнаружено, что черная и речная крачки достоверно отличаются по среднему числу кроссоверов на клетку (53.0 ± 4.2 у черной и 44.1 ± 5.0 у речной крачек) и по распределению кроссоверов на гомологичных хромосомах. Показано, что различия по числу кроссоверов обусловлены различиями в длине синаптонемных комплексов – суммарной длине аутосомных комплексов и длине индивидуальных бивалентов. Было установлено, что на число обменов и различия в их распределении влияют хромосомные перестройки: различие рекомбинационных характеристик между перестроенными гомеологами было выше, чем между неперестроенными. Мы описали особенности синапсиса гетероморфных Z- и W-хромосом, локализовали псевдоаутосомный район и оценили его физический размер. Выяснено, что несмотря на перестройки аутосом, отличающие друг от друга указанные виды, строение и синаптические характеристики половых хромосом не изменились за 9 млн лет, прошедших со времени дивергенции родов *Sterna* и *Chlidonias*.

Ключевые слова: Sternidae; мейоз; иммуноокрашивание; синаптонемные комплексы; хромосомные перестройки; половые хромосомы.

Synapsis and recombination of autosomes and sex chromosomes in two terns (Sternidae, Charadriiformes, Aves)

A.P. Lisachov[1] ✉, L.P. Malinovskaya[1, 2] ✉, A.V. Druzyaka[3], P.M. Borodin[1, 2], A.A. Torgasheva[1]

[1] Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia
[2] Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia
[3] Institute of Animal Systematics and Ecology SB RAS, Novosibirsk, Russia

The frequency of recombination and the patterns of crossover site distribution along the chromosomes vary considerably among animal species, including closely related species. Several hypotheses concerning the adaptive value and evolution of these variations were proposed. It was supposed that the recombination patterns of the species' genomes are influenced by their phylogenetic history and ecology. However, most original data were obtained from mammals. The mammals show high karyological variability, which strongly influences the recombination patterns. Therefore it is important to study recombination rate and distribution in more karyologically stable taxa, such as reptiles and birds. We used immunolocalization of SYCP3, the protein of the lateral element of the synaptonemal complex (SC), centromere proteins and the mismatch-repair protein MLH1, which is associated with the recombination nodules, at the synaptonemal complex spreads of prophase oocytes of two tern species, black tern (*Chlidonias niger*) and common tern (*Sterna hirundo*). We first described the karyotype of *Ch. niger* (2*n* = 74, FN= 94) and identified suggestive rearrangements by which its karyotype differs from that of *S. hirundo* (2*n* = 68, FN = 90). We found that these species significantly differed by the numbers of the MLH1 foci per cell (*Ch. niger*: 53.0 ± 4.2; *S. hirundo*: 44.1 ± 5.0). We showed that the difference in the crossover numbers per cell was determined by the difference in the SC length (total and of individual bivalents) and by chromosomal rearrangements, which also influenced the distributions of crossover sites along the chromosomes. The difference in recombination patterns was higher between the rearranged homeologues than between the non-rearranged ones. We investigated the synaptic patterns of the heteromor-

Received 03.02.2017
Accepted for publication 14.02.2017
© AUTHORS, 2017
A.P. Lisachov and L.P. Malinovskaya equal contribution to manuscript preparation.

✉ e-mail: lisachev@bionet.nsc.ru; l.malinovskaia@g.nsu.ru

phic Z and W chromosomes, localized the pseudoautosomal regions and estimated their lengths. In spite of several autosomal rearrangements, which differentiate these species, the structure and synaptic patterns of the sex chromosomes have not changed over 9 MY, which have passed since the moment of divergence between the genera *Sterna* and *Chlidonias*.

Key words: Sternidae; meiosis; immunostaining; synaptonemal complex; chromosomal rearrangements; sex chromosomes.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Лисачев А.П., Малиновская Л.П., Друзяка А.В., Бородин П.М., Торгашева А.А. Синапсис и рекомбинация аутосом и половых хромосом у двух видов крачек (Sternidae, Charadriiformes, Aves). Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):259-268. DOI 10.18699/VJ17.245

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Lisachov A.P., Malinovskaya L.P., Druzyaka A.V., Borodin P.M., Torgasheva A.A. Synapsis and recombination of autosomes and sex chromosomes in two terns (Sternidae, Charadriiformes, Aves). Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(2):259-268. DOI 10.18699/VJ17.245

Мейотическая рекомбинация, или кроссинговер, играет две основные роли в половом размножении. Во-первых, для правильной сегрегации гомологичных хромосом в первом делении мейоза необходимо наличие как минимум одного кроссовера на хромосому. Во-вторых, рекомбинация перестраивает сочетания аллелей на гомологичных хромосомах, увеличивая генетическое разнообразие потомства (Eyre-Walker, Hurst, 2001). Число и распределение кроссоверов вдоль хромосомы зависят от ее длины, структуры хроматина и интерференции (Pardo-Manuel de Villena, Sapienza, 2001; Lynn et al., 2002). Чем длиннее хромосома, тем больше кроссоверов на ней образуется. В эухроматине рекомбинация выше, чем в гетерохроматине (McKee, Handel, 1993). Явление интерференции заключается в том, что возникновение кроссоверного обмена понижает вероятность возникновения другого обмена рядом с ним (Kleckner et al., 2004). Рекомбинация обычно подавляется в районе, прилегающем к центромере (Youds, Boulton, 2011).

Характеристики уровня рекомбинации и распределения кроссоверов на хромосомах изучены у многих видов млекопитающих (Segura et al., 2013; Dumont, 2017). Обнаружено, что у них количество обменов на клетку и их распределение по длине хромосом значительно варьируют. Существует ряд объяснений такой вариации, связанных с филогенией (Segura et al., 2013), экологией (Otto, Michalakis, 1998), динамикой популяций (Barton, Otto, 2005). Однако млекопитающие характеризуются большим разнообразием кариотипов, а различия в числе и строении хромосом оказывают значительное влияние на рекомбинацию (Pardo Manuel de Villena, Sapienza, 2001). Поэтому для лучшего понимания эволюционной роли интенсивности рекомбинации и распределения рекомбинационных событий на хромосомах актуально изучение других групп позвоночных, в частности птиц. Птицы имеют крайне стабильные кариотипы по сравнению с млекопитающими (Ellegren, 2010), следовательно, в вариацию между видами птиц по характеристикам рекомбинации кариологические различия вносят намного меньший вклад.

Для некоторых видов птиц характеристики рекомбинации уже описаны (Pigozzi, Solari, 1999; Pigozzi, 2001; Calderon, Pigozzi, 2006; del Priore, Pigozzi, 2016). Обнаружено, что частота рекомбинации у них, как правило, значительно выше, чем у млекопитающих. Однако число исследованных видов птиц на настоящий момент невелико и составляет около полутора десятков. Особенный интерес представляет сравнение рекомбинации у родственных видов птиц. Оно позволит выявить изменения характеристик рекомбинации на небольших эволюционных промежутках.

Важное отличие птиц от млекопитающих – наличие ZW-системы половых хромосом (Graves, 2014). Z-хромосома курицы, модельного вида птиц, – макрохромосома, шестая по порядку длины; W-хромосома курицы меньше и содержит большое количество гетерохроматина. У других видов птиц ZW-хромосомы гомологичны половым хромосомам курицы. Это показано хромосомным пейнтингом и генетическим картированием (Nanda et al., 1999, 2008; Shetty et al., 1999).

Относительная длина псевдоаутосомного и дифференцированного районов варьирует в разных группах птиц. У более древних бескилевых птиц, таких как страус нанду (*Rhea americana*), псевдоаутосомный район может занимать до 80 % длины половых хромосом (Pigozzi, Solari, 1997). У новонёбных птиц его длина обычно намного меньше, он занимает лишь концевой район одного из плеч Z- и W-хромосом (Zhou et al., 2014).

В мейозе у самок птиц половые хромосомы синаптируют по всей длине, несмотря на отсутствие гомологии и разницу в размерах, в отличие от XY-хромосом млекопитающих, которые синаптируют не полностью (Turner, 2007). Длинная Z- и короткая W-хромосомы начинают спариваться в гомологичном псевдоаутосомном районе. Затем Z-хромосома укорачивается и оборачивается вокруг W-хромосомы, после этого происходит полное спаривание. В конце пахитены и в диплотене десинапсис половых хромосом происходит в обратном порядке: сначала расплетаются негомологичные участки, а затем псевдоаутосомный район (Solari, 1992; Solari, Pigozzi, 1993).

В отличие от XY-хромосом млекопитающих, которые могут подвергаться значительным модификациям (утрата рекомбинации и полный асинапсис в мейозе (Borodin et al., 2012), добавление новых фрагментов аутосом (Zhou et al., 2008), утеря Y-хромосомы (Kolomiets et al., 1991; Matveevsky et al., 2016)), ZW-хромосомы птиц более консервативны. Известен лишь один пример транслокации на

них аутосомного материала (Pala et al., 2012). Однако относительно малое число видов птиц, у которых строение Z- и W-хромосом изучено современными методами, не позволяет детально описать разнообразие и эволюцию половых хромосом в различных отрядах и семействах. Анализ синапсиса и рекомбинации в мейозе – один из лучших методов исследования половых хромосом, так как выявляет локализацию и границы псевдоаутосомных и дифференцированных районов. Таким образом, изучение мейотического поведения половых хромосом у неисследованных в этом отношении видов птиц представляет значительный интерес.

В качестве модельных видов для изучения рекомбинации у родственных видов птиц и строения половых хромосом мы выбрали два вида крачек (Sternidae, Charadriiformes) – речную (*Sterna hirundo*) и черную (*Chlidonias niger*). По данным секвенирования генов мтДНК, время дивергенции между ними составляет 8–9 млн лет (Bridge et al., 2005). Эти птицы широко распространены и многочисленны, хорошо известны их биология и экология. У данных видов различаются составы употребляемых кормов, генетическая и пространственная структуры популяций (Szczys et al., 2012, 2016). Однако кариотип *S. hirundo* ранее был исследован лишь при помощи рутинной окраски (Hammar, 1970), а кариотип *Ch. niger* не был охарактеризован, аутосомы и половые хромосомы не описаны.

Для анализа характеристик рекомбинации аутосом и половых хромосом у крачек использовали иммунолокализацию белка бокового элемента синаптонемного комплекса (СК) SYCP3, белков центромеры и белка мисматч-репарации MLH1, маркирующего зрелые рекомбинационные узелки (Anderson et al., 1999).

Материалы и методы

В качестве материала для исследования использованы самки в возрасте 1–3 суток, отловленные на Карасукской биостанции Института систематики и экологии животных СО РАН (окрестности г. Карасук, Новосибирская область). Отлов, содержание и эвтаназию проводили в соответствии с протоколами, одобренными Комиссией по биоэтике ИЦиГ СО РАН.

Препараты СК готовили по методике A.H. Peters с коллегами (1997). Выделенные яичники помещали в гипотонический экстракционный буфер (30 мМ Трис, 50 мМ сахарозы, 17 мМ цитрата натрия, 5 мМ ЭДТА, pH = 8.2) на 30–60 мин. Затем фрагменты яичника мацерировали в 40 мкл раствора 100 мМ сахарозы при pH = 8.2. Остатки стромы яичника удаляли, а суспензию наносили порциями по 20 мкл на предметные стекла, смоченные в 1 % растворе параформальдегида, и распределяли наклоном стекла. Затем препарат оставляли сушиться во влажной камере в течение 1–2 ч. Высушенные препараты промывали в 0.4 % Kodak PhotoFlo.

Иммуноокрашивание проводили по методике L.K. Anderson с коллегами (1999) с небольшими модификациями. На препараты наносили 500 мкл 10 % PBT (PBS (фосфатно-солевой буфер), 0.05 % Tween-20, 3 % BSA (Sigma-Aldrich, США)) для блокирования неспецифичного связывания антител и выдерживали в течение 45 мин. Затем инкубировали 12 ч при 4 или 37 °C с поликлональными антителами кролика к SYCP3 человека (Abcam, Великобритания) при разведении 1 : 1 000, моноклональными антителами мыши к белку MLH1 человека (Pharmingen, США) при разведении 1 : 50, антителами человека к белкам центромеры человека (Sigma-Aldrich) при разведении 1 : 100 в PBT. Препараты отмывали три раза по 15 мин в PBS с 0.1 % Tween-20 и инкубировали 60 мин при 37 °C с антителами осла к иммуноглобулинам кролика, конъюгированными с флуоресцентной меткой Cy3 (Jackson Laboratories, США) в разведении 1 : 200, антителами козы к иммуноглобулинам мыши, конъюгированными с флуоресцентной меткой FITC (Jackson Laboratories, США) в разведении 1 : 400, антителами козы к иммуноглобулинам человека, конъюгированными с флуоресцентной меткой AMCA (Vector Laboratories, США) в разведении 1 : 100, согласно стандартному протоколу. Препараты отмывали в PBS, высушивали, наносили 15 мкл раствора антифэйда (Vectashield; Vector Laboratories, США) для предотвращения гашения флуоресценции и накрывали покровным стеклом.

Микроскопический анализ проводили в Центре коллективного пользования микроскопического анализа биологических объектов СО РАН. Препараты анализировали на микроскопе Axioplan 2 (ZEISS, Германия) снабженном CCD-видеокамерой (CV M300, JAI Corporation, Япония), набором комплектов фильтров CHROMA и программным обеспечением для обработки изображений ISIS4 (MetaSystems GmbH, Германия). Яркость и контраст изображений редактировали с использованием пакета Corel PaintShop Photo Pro X3.

Длины хромосом и относительного положения точек рекомбинации измеряли при помощи программы MicroMeasure 3.3 (Reeves, 2001). Статистические тесты проводили с использованием программы Statistica 6.0 (StatSoft). Средние значения длин СК и числа сайтов MLH1 приведены со стандартными отклонениями (± S.D.).

Результаты и обсуждение

Кариотипы исследованных видов. Ранее кариотип черной крачки не был описан. В ооцитах черной крачки присутствовали 37 бивалентов (36 аутосомных и ZW-бивалент, $2n = 74$, FN = 94). Среди аутосомных бивалентов отмечено 14 макрохромосом и 22 микрохромосомы. Суммарная длина аутосом составила 288.3 ± 47.5 мкм (рис. 1, *а*, *б*). Длины, морфология и условные обозначения макробивалентов черной крачки представлены в табл. 1.

Наряду с хромосомами, которые можно идентифицировать однозначно, присутствовали три группы хромосом с одинаковым размером и морфологией: акроцентрики 5–6, метацентрики 7–10 и акроцентрики 11–14. Микрохромосомы имели длину 2–5 мкм, из 22 микрохромосом 3 были метацентрическими, остальные – акроцентрическими.

У черной крачки клеток с полным асинапсисом половых хромосом не обнаружено, поэтому было невозможно точно измерить свободные Z- и W-хромосомы. Z-хромосома на ранних стадиях синапсиса была близка по размеру хромосоме 2 (максимальная длина 32.4 мкм), ее центромерный индекс (ЦИ) составлял 0.45 ± 0.04. W-хромосома на ранних стадиях синапсиса имела длину примерно 50 % от

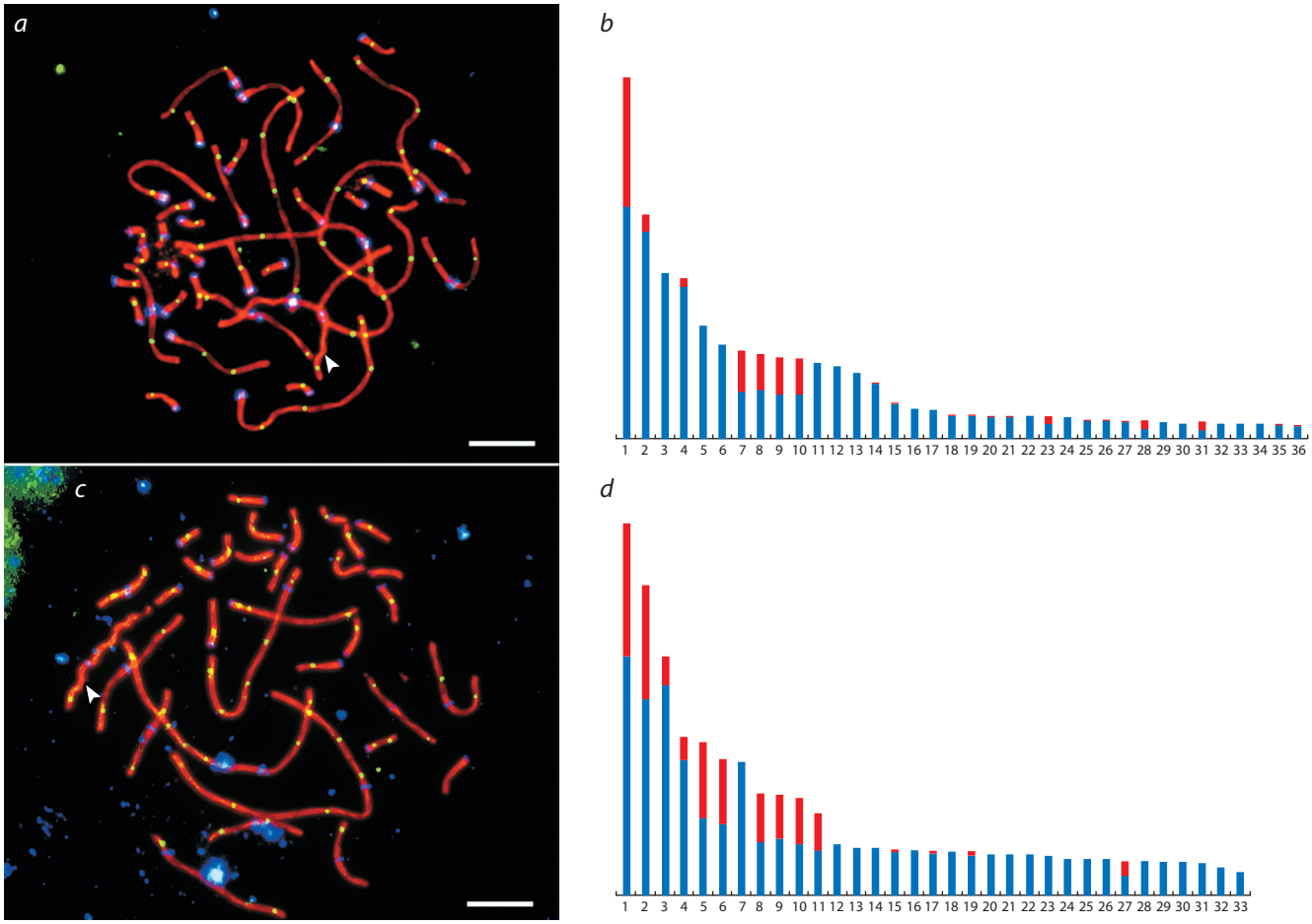


Fig. 1. Chromosome sets of the black (*a*, *b*) and common (*c*, *d*) terns.

(*a*, *c*) Pachytene oocytes. Red, SYCP3; green, MLH1; blue, centromere. The arrow shows the sex bivalent. Scale bar 5 μm. (*b*, *d*) Idiograms of the autosomal sets. Red, short arm; blue, long arm.

Table 1. Macrobivalents in the black and common terns

Bivalent	CI	Length		Number of MLH1 foci
		absolute, μm	relative, %*	
		Chlidonias niger		
CNI1	0.34 ± 0.04	47.3 ± 9.7	16.2	5.1 ± 1.3
CNI2	0.08 ± 0.01	27.5 ± 5.3	9.5	3.2 ± 0.9
CNI3	0	22.5 ± 4.1	7.8	2.7 ± 0.8
CNI4	0.04 ± 0.01	19.4 ± 3.6	6.7	2.5 ± 0.7
CNI5-6	0	14.7 ± 2.8	5.1	2.1 ± 0.5
CNI7-10	0.45 ± 0.03	10.9 ± 1.9	3.8	1.8 ± 0.5
CNI11-14	0	8.9 ± 1.8	3.1	1.5 ± 0.4
		Sterna hirundo		
SHI1	0.35 ± 0.02	36.5 ± 7.6	15.2	4.2 ± 1.2
SHI2	0.36 ± 0.02	28.6 ± 6.0	12.0	3.6 ± 1.1
SHI3	0.09 ± 0.01	22.1 ± 4.6	9.2	2.8 ± 0.9
SHI4	0.15 ± 0.02	14.4 ± 3.0	6.1	1.8 ± 0.7
SHI5-6	0.48 ± 0.02	12.9 ± 2.7	5.4	2.0 ± 0.5
SHI7	0	12.0 ± 2.4	5.0	1.9 ± 0.6
SHI8-11	0.47 ± 0.02	8.2 ± 1.3	3.5	1.5 ± 0.5

* Autosomal SC length basis.

длины Z-хромосомы (15.4±2.8 мкм) и имела ЦИ 0.35±0.04.

Кариотип речной крачки включал 34 бивалента ($2n$ = 68, FN = 90), среди которых 33 аутосомных и ZW-бивалент. Он соответствовал кариотипу, описанному ранее (Hammar, 1970). Среди аутосомных бивалентов 11 представляли собой макрохромосомы, 22 – микрохромосомы. Общая длина СК аутосом составила 237.9±±38.9 мкм (см. рис. 1, *в*, *г*). Длины, ЦИ и условные обозначения макрохромосом речной крачки приведены в табл. 1.

У речной крачки также наблюдались как надежно идентифицируемые хромосомы, так и группы морфологически неразличимых хромосом – метацентрики 5–6 и акроцентрики 8–11. Длина микробивалентов, как и у черной крачки, составляет 2–5 мкм. Из 22 пар микрохромосом 21 пара является акроцентрической, а одна – метацентрической.

Длина свободной Z-хромосомы до спаривания (или после десинапсиса) составила 23.2±4.3 мкм, ее ЦИ был равен 0.44±0.05. Несинаптированная W-хромосома имела абсолютную длину 10.3±2.6 мкм и ЦИ 0.36±0.04.

Предковый кариотип птиц, предположительно, характеризовался гаплоидным числом хромосом n = 40, включающим приблизительно 10 макро- и 30 микрохромосом (Burt, 2002; Griffin et al., 2007; Ellegren, 2009; Romanov et al., 2014). Данный кариотип или близкие к нему (n = 38–42) сохраняются у двух третей исследованных видов птиц. Кариотипы крачек, описанные нами (n = 34, 37), выходят за пределы этой вариации, однако близки к предковым для птиц значениям. Отклонения от предкового кариотипа характерны, помимо крачек, для дневных хищников, попугаев (n = 25) (Ellegren, 2010), а также авдотковых (Burhinidae), принадлежащих к тому же, что и крачки, отряду ржанкообразных (n = 21) (Nie et al., 2015).

С целью реконструкции хромосомных перестроек, которые обусловили различия между кариотипами черной и речной крачек, мы сопоставили ЦИ и размеры их бивалентов. Для восьми хромосом черной крачки найдены аналоги среди хромосом речной крачки. Это хромосома 1 (CNI1 и SHI1),

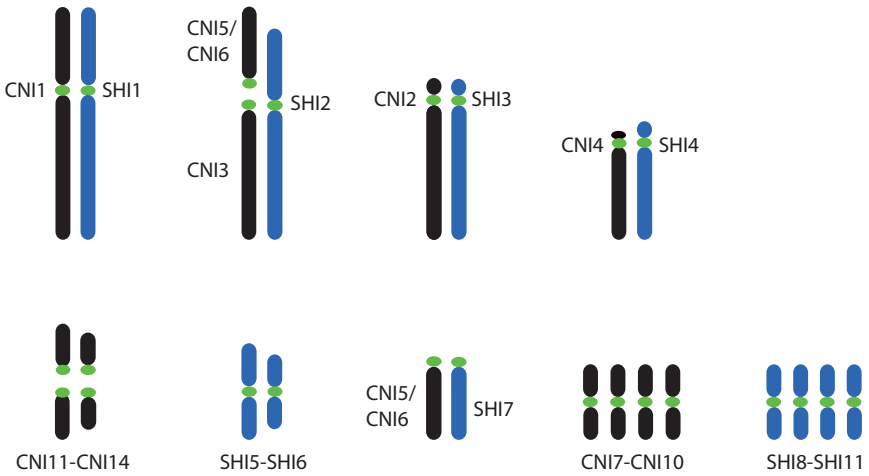


Fig. 2. The presumed homeologous correspondence between the macrochromosomes of the black tern (*Chlidonias niger*, CNI) and the common tern (*Sterna hirundo*, SHI).

The lengths of the chromosomes correspond to their relative lengths in the karyotypes.

средние субакроцентрические хромосомы (CNI2 и CNI4, SHI3 и SHI4), одна малая акроцентрическая хромосома (CNI5 или CNI6 и SHI7) и группа из четырех малых метацентрических хромосом (CNI7–CNI10 и SHI8–SHI11). CNI4 и SHI4 при сходном размере имеют разный ЦИ (0.04 у черной крачки и 0.15 – у речной). Это может быть вызвано смещением центромеры или перицентрической инверсией. При одинаковом числе микрохромосом у черной крачки три из них – метацентрики, а у речной только одна. Это также может быть связано с инверсиями или смещением центромеры.

Для шести макрохромосом черной крачки (акроцентрической хромосомы CNI3, одной из средних акроцентрических хромосом CNI5 или CNI6 и малых акроцентрических хромосом CNI11–CNI14) аналогов в кариотипе речной крачки не обнаружено. В кариотипе черной крачки отсутствовали аналоги трех макрохромосом речной крачки (субметацентрической хромосомы SHI2, метацентрической хромосомы SHI5 и SHI6). Можно предположить, что шесть акроцентрических хромосом черной крачки гомологичны трем субметацентрическим и метацентрическим хромосомам речной крачки. Сопоставление размеров хромосом позволяет предположить, что плечи малых метацентриков SHI5, SHI6 соответствуют четырем акроцентрикам CNI11-CNI14, q-плечо субметацентрика SHI2 – акроцентрику CNI3, а его p-плечо – одному из акроцентриков, CNI5 или CNI6 (рис. 2).

Следовательно, макрохромосомные фракции кариотипов исследованных видов крачек, вероятно, отличаются друг от друга тремя слияниями или разделениями хромосом и как минимум одной перицентрической инверсией или смещением центромеры. Так как кариотип речной крачки близок к кариотипу чайки *Larus fuscus*, вида из другого семейства того же подотряда Lari в составе отряда ржанкообразных (Hammar, 1970), мы предполагаем, что ее кариотип соответствует кариотипу общего предка двух видов, а кариотип черной крачки возник за счет разделения предковых метацентрических хромосом от него. Для проверки этого предположения необходимо исследовать другие виды крачек с использованием хромосомного пэйнтинга.

Существует несколько гипотез о причинах стабильности кариотипов птиц. Одна из них связывает малое число перестроек с утерей повторенных последовательностей при уменьшении размера генома. Как известно, хромосомные перестройки чаще происходят в локусах тандемных повторов. Также предполагают, что у птиц во время мейотического чекпойнта элиминируются почти все клетки, гетерозиготные по перестройкам, что делает носителей измененных кариотипов стерильными. Еще одно возможное объяснение состоит в адаптивности разбиения генома на большое количество хромосом для увеличения частоты рекомбинации генов (Griffin, Burt, 2014; Romanov

Table 2. Recombination characteristics in birds

Species	*n*	C, pg	SC length, μm	MLH1 number per cell	Genetic map length, cM	MLH1 per μm	Recombination rate, cM/Mb	Reference
Anser anser	40	1.30	283 ± 41	73.6 ± 7.8	3682	0.24	2.9	Torgasheva, Borodin, 2017
Anas platyrhynchos	40	1.44	–	55.9 ± 3.8	2845	–	2.0	del Priore, Pigozzi, 2016
Columba livia	40	1.54	228 ± 22	62.7 ± 4.9	3135	0.26	2.2	Pigozzi, Solari, 1999
Gallus gallus	39	1.25	163	65.0 ± 4.0	3251	0.40	2.7	Pigozzi, 2001
Taenopygia guttata	39	1.25	154 ± 25	45.7 ± 0.4	2285	0.30	1.9	Calderon, Pigozzi, 2006
Coturnix japonica	39	1.35	239 ± 34	55.3 ± 2.1	2765	0.23	2.1	»
Sterna hirundo	34	1.40*	238 ± 39	44.1 ± 5.0	2254	0.19	1.6	This work
Chlidonias niger	37	1.40*	288 ± 47	53.0 ± 4.2	2700	0.18	2.0	»

*the value for the related species *Thalasseus sandvicensis* is used (Gregory, 2016), because the values for the studied species are unknown.

et al., 2014). Мы считаем более правдоподобной первую гипотезу. Стерильности гетерозигот по перестройкам из-за элиминации клеток с нарушениями синапсиса во время пахитенного чекпойнта противоречит существование перестроенных кариотипов у многих видов птиц, в том числе обнаруженное нами различие между двумя видами крачек. Разделение генома на большое количество хромосом для увеличения эффективности рекомбинации может быть обеспечено и при значительном числе межхромосомных перестроек.

Причины ускоренной хромосомной эволюции в некоторых линиях птиц также остаются неясными. Необходимо исследовать кариотипы большего числа видов крачек, чтобы оценить реальное количество перестроек в данном семействе и возможную их роль в видообразовании.

Интенсивность рекомбинации в геномах крачек. У черной крачки общее число сайтов MLH1 на аутосомных бивалентах составило 53.0 ± 4.2, у речной крачки – 44.1 ± 5.0. Для получения полной длины генетической карты аутосомное число сайтов MLH1 умножили на 50 (1 кроссовер – 50 сантиморганов (cM)) и добавили 50 cM для облигатного обмена половых хромосом. Таким образом, длина рекомбинационной карты черной крачки составила 2700 cM, речной – 2254 cM. Разница по числу сайтов MLH1 у черной и речной крачек обусловлена разницей в длине СК, что доказывается практически одинаковыми значениями плотности сайтов MLH1: 0.18 сайтов на 1 мкм СК у обоих видов. Положительная корреляция уровня рекомбинации с общей длиной СК и отношением длины СК к размеру генома (степенью декомпактизации хромосом в пахитенных клетках) установлена для выборки видов позвоночных из разных классов (Peterson et al., 1994).

Значения интенсивности рекомбинации, полученные для исследованных видов крачек, находятся в пределах вариации интенсивности рекомбинации у класса птиц. Интенсивность рекомбинации у птиц в целом выше, чем у других исследованных видов позвоночных (в основном млекопитающих) (табл. 2). Это также связывают с большей суммарной длиной СК, чем у млекопитающих (несмотря на меньший размер генома), а также с большим числом хромосом (Peterson et al., 1994; Pigozzi, 2001). Кроме того, высокая интенсивность рекомбинации связана с небольшой силой межкроссоверной и центромерной интерференции: у птиц слабо выражено подавление кроссинговера в центромерном районе (del Priore, Pigozzi, 2016).

Эволюционное значение высокого уровня рекомбинации у птиц может быть связано с высокой конкуренцией внутри вида, в том числе половым отбором, большой подвижностью (следовательно, обитанием в разнообразных условиях).

Два исследованных вида крачек характеризуются заметными экологическими различиями. У речной крачки более разнообразная подвидовая структура: Евразию населяют четыре подвида. У черной крачки всю Евразию населяет один подвид (Olsen, Larsson, 1995). У речной крачки выше генетическая дифференциация между популяциями (F_{ST} составляют соответственно 0.02–0.33 и 0.03–0.12) (Szczys et al., 2012, 2016).

Возможно, более высокий уровень рекомбинации у черной крачки связан с более широким ареалом, требующим адаптации к разным условиям. Более низкая интенсивность рекомбинации у речной крачки может играть роль в ограничении потока генов между подвидами и популяциями. Черная крачка также характеризуется более непредсказуемой и вариабельной кормовой базой, так как в ее рацион обязательно должны входить беспозвоночные (Gilbert, Servello, 2005).

Рекомбинация отдельных аутосом. Мы оценили частоту и распределение сайтов рекомбинации на отдельных макробивалентах и группах макробивалентов. Средние числа сайтов MLH1 на отдельных макробивалентах черной и речной крачек приведены в табл. 1. Для всех бивалентов установлена линейная корреляция между длиной СК и числом сигналов MLH1 (коэффициент детерминации $R^2 = 0.997$ у черной крачки и $R^2 = 0.989$ у речной крачки). Для анализа распределения обменов вдоль макрохромосом разделили их плечи на равные интервалы, соответствующие 1 мкм средней длины плеча. В каждом интервале подсчитали долю расположенных на нем локусов MLH1 от общего числа локусов на данном биваленте во всех клетках, отдельно учитывая биваленты с

разным числом кроссоверов (рис. 3). Распределениям обменов вдоль бивалентов характерны прителомерные пики, типичные для большинства позвоночных (Mary et al., 2014). Их формирование связано с тем, что в лептотене первыми сближаются дистальные районы хромосом, образуя «теломерный букет», что способствует инициации рекомбинации (Zickler, Kleckner, 2015). Прителомерные пики рекомбинации были сильнее выражены на бивалентах небольшого размера. У акроцентрических бивалентов прителомерный пик рекомбинации наблюдался также в проксимальном (прицентромерном) районе (см. рис. 3). Вероятно, возникновение этого пика связано со слабой центромерной интерференцией.

Инициация синапсиса и рекомбинации в теломерах также может объяснять разницу в распределении сайтов MLH1 вдоль плеч, предположительно, вовлеченных в хромосомные перестройки. Проксимальный (прицентромерный) рекомбинационный пик был характерен для плеч акроцентрических хромосом черной крачки и отсутствовал в тех же плечах, которые входили в состав метацентрической хромосомы у речной крачки. Это подтверждает предположение о том, что паттерн распределения рекомбинационных обменов в большей степени определяется морфологией хромосомы, а не генетическим содержанием отдельных ее районов (Gorlov et al., 1991).

При сравнении частоты кроссинговера в элементах, которые у обоих видов крачек являются отдельными хромосомами, обнаружено, что различия между ними также обусловлены морфологией. Заметные различия отмечены в распределении кроссоверов на хромосоме 4 обоих видов (см. рис. 3). У речной крачки она имеет центромерный индекс 0.15, а у черной – 0.04. У черной крачки она ведет себя почти как акроцентрическая хромосома CNI3, имея два выраженных терминальных пика рекомбинации, а у речной крачки терминальный пик у прицентромерного конца выражен слабо и распределением обменов эта хромосома похожа на субакроцентрик SHI3. Это может быть связано с супрессией рекомбинации вблизи центромеры. У CNI3 и CNI4 центро-

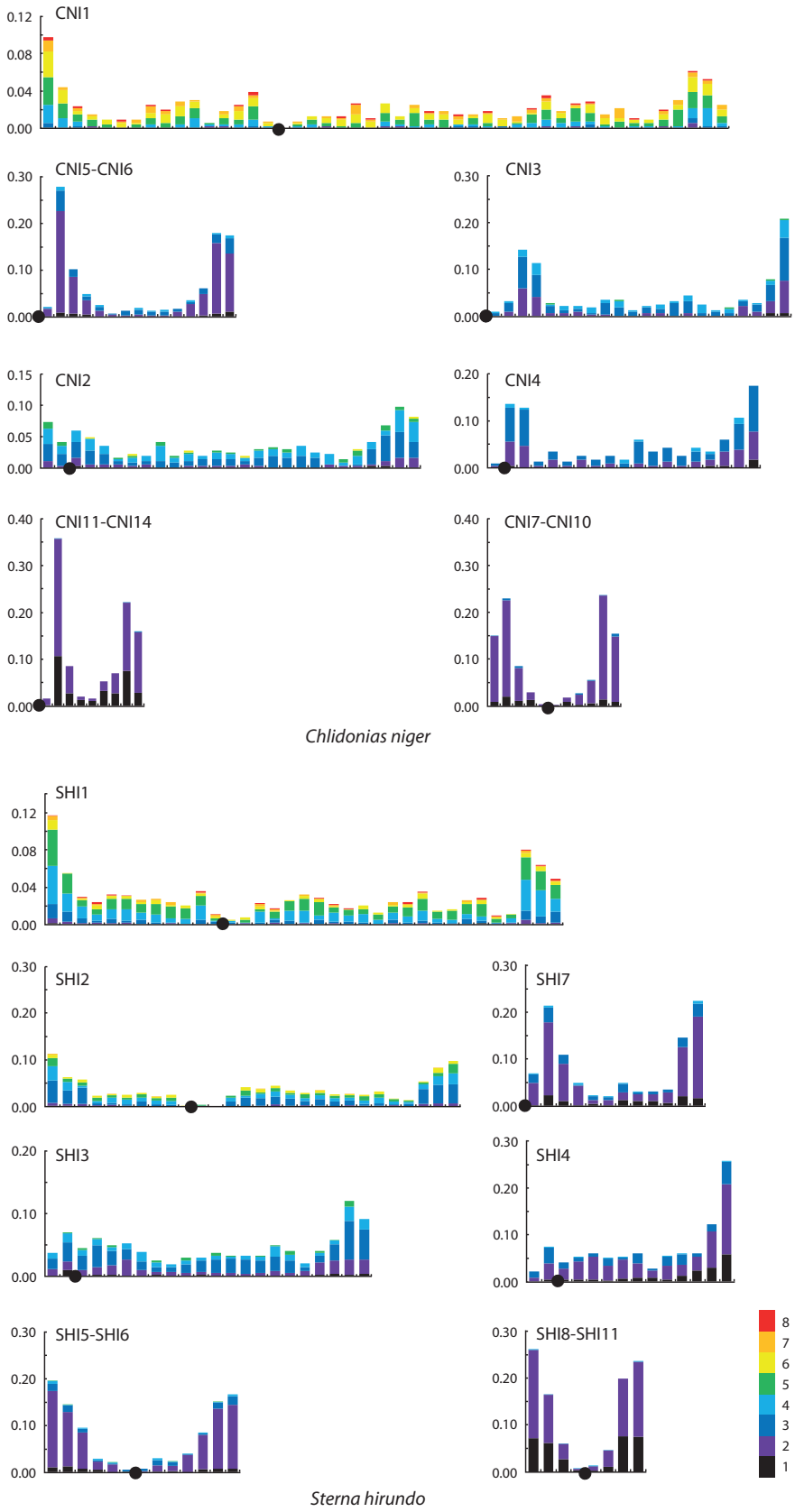


Fig. 3. The distribution of MLH1 foci along the macrobivalents of the black (*Ch. niger*) and common (*S. hirundo*) terns.
The X axis shows the positions of MLH1 foci along the macrochromosomal SCs in relation to the centromere (black circle). One scale division represents a segment of the average length of each SC, which is 1 μm. The Y axis shows the proportion of MLH1 foci in each interval. Different colors show bivalents with different MLH1 numbers, from 1 to 8.

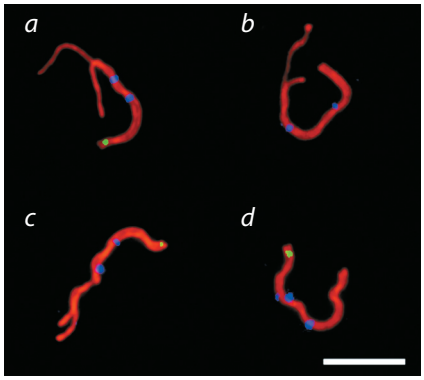


Fig. 4. The stages of sex bivalent synapsis in the common tern.

Red, SYCP3; green, MLH1; blue, centromere. Scale bar 5 μm.

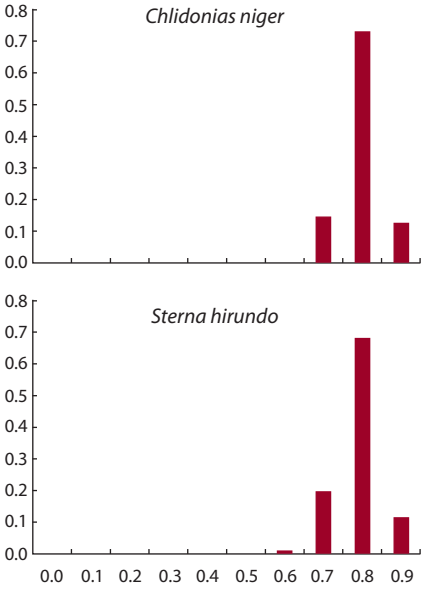


Fig. 5. The relative positions of the MLH1 foci on the short arm of the W chromosome in the black (*Ch. niger*) and common (*S. hirundo*) terns.

The X axis shows the relative distance from the centromere. The Y axis shows the proportion of bivalents that contain an MLH1 focus in the given interval.

мера, располагаясь близко к концу хромосомы, почти не накладывается на прителомерный пик рекомбинации, расположенный дистальнее. У SHI3 и SHI4 центромера находится дальше от конца хромосмы и накладывается на прителомерный пик рекомбинации, подавляя его за счет центромерной интерференции.

Обнаружено, что перестройки влияют на число кроссоверов на бивалентах. Так как биваленты черной крачки длиннее соответствующих бивалентов речной крачки, обменов на них больше. Биваленты черной крачки, не вовлеченные в перестройки, имеют в среднем на 20 % больше обменов, чем их гомеологи речной крачки. Для перестроенных сегментов суммарное число обменов на двух акроцентриках черной крачки в среднем на 45 % больше, чем на гомологичном метацентрике речной крачки. Эти различия, по-видимому, обусловлены необходимостью как минимум одного кроссовера для упорядоченного расхождения гомологов в анафазе мейоза. Две акроцентрические хромосомы должны содержать каждая по обмену, но когда они становятся плечами одной хромосомы, для их правильного расхождения достаточно одного обмена на любом из плеч. Этот фактор также вносит вклад в различие в общем уровне рекомбинации между черной и речной крачками.

Таким образом, мы выявили различие между черной и речной крачками по суммарной длине СК, числу и морфологии хромосом. Показано, что различия в распределении кроссоверных обменов на предположительно гомологичных друг другу хромосомах и хромосомных плечах изученных видов обусловлены, в первую очередь, различиями в их морфологии.

Синапсис и рекомбинация половых хромосом. Спаривание половых хромосом у речной и черной крачек было задержано по сравнению с аутосомами: во многих клетках наблюдались частично спаренные или неспаренные ZW-хромосомы при полностью синаптированных аутосомах. Всего в суммарной выборке из 259 ооцитов речной крачки было обнаружено 23 ооцита с несинаптированными половыми хромосомами. У черной крачки наблюдали только частично или полностью спаренные половые хромосомы. Точка инициации синапсиса находилась на конце короткого плеча W-хромосомы. Синапсис продолжался по всей длине W-хромосомы, затем происходила эквиализация оставшейся части Z-хромосомы: она компактизовалась и оборачивалась вокруг W-хромосомы (рис. 4). В итоге достигалось полное спаривание.

Локализация белка рекомбинации MLH1 позволила идентифицировать псевдоаутосомный район половых хромосом черной и речной крачек. Он располагался на терминальных сегментах короткого плеча W-хромосомы и одного из плеч Z-хромосомы в районе инициации синапсиса (см. рис. 4). Наиболее проксимальные сигналы MLH1 располагались на расстоянии 1.8 мкм от теломеры у черной крачки и 1.2 мкм – у речной крачки, наиболее дистальные – 0.3 мкм у черной и 0.2 мкм – у речной. Средние расстояния составили 0.8 ± 0.3 и 0.6 ± 0.2 мкм соответственно. Более 80 % сигналов MLH1 располагались у обоих видов на терминальных участках, составляющих 20 % от длины короткого плеча W-хромосомы (рис. 5).

У новонёбных птиц (Neognathae) строение половых хромосом достаточно консервативно по сравнению с бескилевыми птицами (Paleognathae), такими как страусы и тинаму, для которых характерны значительные межвидовые различия по длине псевдоаутосомного района (Pigozzi, Solari, 2005; Pigozzi, 2011).

Несмотря на перестройки аутосом, отличающие друг от друга исследованные нами виды, морфология половых хромосом, их синаптические и рекомбинационные характеристики, остались неизменными в течение 9 млн лет, прошедших со времени родов *Sterna* и *Chlidonias*. Более того, сходные особенности мейотического поведения ZW-хромосом описаны у домашней курицы (Pigozzi, 2001), зебровой амадины (Calderon, Pigozzi, 2006), японского перепела (Calderon, Pigozzi, 2006), домашней утки (del Priore, Pigozzi, 2016), домашнего гуся (Torgasheva, Borodin, 2017), т. е. видов, разделенных десятками миллионов лет независимой эволюции.

Похожая относительная консервативность Х-хромосомы, которая реже аутосом вовлекается в межхромосомные перестройки, отмечена для млекопитающих и обычно объясняется Х-специфичными механизмами дозовой компенсации, распространение которых на транслоцированный аутосомный фрагмент привело бы к вредному изменению экспрессии аутосомных генов (Nanda et al., 2008). К настоящему времени исследовано слишком мало видов птиц с перестроенными кариотипами, чтобы судить, действительно ли у птиц половые хромосомы вовлекаются в перестройки реже аутосом. Для прояснения этого вопроса необходимо исследовать строение и рекомбинацию половых

хромосом у большего числа видов в тех группах птиц, для которых характерна интенсивная хромосомная эволюция. Помимо крачек, к таким группам относятся, например, дневные хищники и попугаи.

Acknowledgments

This work was supported by State Budgeted Project 0324-2016-0003 and the Russian Foundation for Basic Research, project 15-04-08389.

The authors are grateful to A.Yu. Zotov for help in animal entrapment, to E.A. Kizilova and M.I. Rodionova for assistance in bird dissection and mount preparation, and to the staff of the Shared Access Center for Microscopy of Biologic Objects, Novosibirsk for access to the equipment.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Anderson L.K., Reeves A., Webb L.M., Ashley T. Distribution of crossing over on mouse synaptonemal complexes using immunofluorescent localization of MLH1 protein. Genetics. 1999;151:1569-1579.

Barton N.H., Otto S.P. Evolution of recombination due to random drift. Genetics. 2005;169(4):2353-2370.

Borodin P.M., Basheva E.A., Torgasheva A.A., Dashkevich O.A., Golenishchev F.N., Kartavtseva I.V., Mekada K., Dumont B.L. Multiple independent evolutionary losses of XY pairing at meiosis in the grey voles. Chromosome Res. 2012;20:259-268.

Bridge E.S., Jones A.W., Baker A.J. A phylogenetic framework for the terns (Sternini) inferred from mtDNA sequences: implications for taxonomy and plumage evolution. Mol. Phylogenet. Evol. 2005; 35(2):459-469.

Burt D.W. Origin and evolution of avian microchromosomes. Cytogenet. Genome Res. 2002;96(1-4):97-112.

Calderon P.L., Pigozzi M.I. MLH1-focus mapping in birds shows equal recombination between sexes and diversity of crossover patterns. Chromosome Res. 2006;14(6):605-612.

del Priore L., Pigozzi M.I. Meiotic recombination analysis in female ducks (Anas platyrhynchos). Genetica. 2016;144(3):307-312.

Dumont B.L. Variation and evolution of the meiotic requirement for crossing over in mammals. Genetics. 2017;205(1):155-168.

Ellegren H. Genomic evidence for a large-Z effect. Proc. Biol. Sci. 2009;276(1655):361-366.

Ellegren H. Evolutionary stasis: the stable chromosomes of birds. Trends Ecol. Evol. 2010;25(5):283-291.

Eyre-Walker A., Hurst L.D. The evolution of isochores. Nat. Rev. Genet. 2001;2(7):549-555.

Gilbert A.T., Servello F.A. Insectivory versus piscivory in Black Terns: implications for food provisioning and growth of chicks. Waterbirds. 2005;28(4):436-444.

Gorlov I.P., Ladygina T.Y., Serov O.L., Borodin P.M. Positional control of chiasma distribution in the house mouse. Chiasma distribution in mice homozygous and heterozygous for an inversion in chromosome 1. Heredity. 1991;66:453-458.

Graves J.A.M. Avian sex, sex chromosomes, and dosage compensation in the age of genomics. Chromosome Res. 2014;22(1):45-57.

Gregory T.R. Animal Genome Size Database. http://www.genomesize.com [2 декабря 2016].

Griffin D.K., Burt D.W. All chromosomes great and small: 10 years on. Chromosome Res. 2014;22(1):1-6.

Griffin D.K., Robertson L.B.W., Tempest H.G., Skinner B.M. The evolution of the avian genome as revealed by comparative molecular cytogenetics. Cytogenet. Genome Res. 2007;117(1-4):64-77.

Hammar B.O. The karyotypes of thirty-one birds. Hereditas. 1970; 65(1):29-58.

Kleckner N., Zickler D., Jones G.H., Dekker J., Padmore R., Henle J., Hutchinson J. A mechanical basis for chromosome function. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004;101(34):12592-12597.

Kolomiets O.L., Vorontsov N.N., Lyapunova E.A., Mazurova T.F. Ultrastructure, meiotic behavior, and evolution of sex chromosomes of the genus Ellobius. Genetica. 1991;84(3):179-189.

Lynn A., Koehler K.E., Judis L., Chan E.R., Cherry J.P., Schwartz S., Seftel A., Hunt P.A., Hassold T.J. Covariation of synaptonemal complex length and mammalian meiotic exchange rates. Science. 2002; 296(5576):2222-2225.

Mary N., Barasc H., Ferchaud S., Billon Y., Meslier F., Robelin D., Calgaro A., Loustau-Dudez A.-M., Bonnet N., Yerle M., Acloque H., Ducos A., Pinton A. Meiotic recombination analyses of individual chromosomes in male domestic pigs (Sus scrofa domestica). PloS ONE. 2014;9(6):e99123.

Matveevsky S., Bakloushinskaya I., Kolomiets O. Unique sex chromosome systems in Ellobius: How do male XX chromosomes recombine and undergo pachytene chromatin inactivation? Sci. Rep. 2016;6:29949.

McKee B.D., Handel M.A. Sex chromosomes, recombination, and chromatin conformation. Chromosoma. 1993;102(2):71-80.

Nanda I., Schlegelmilch K., Haaf T., Schartl M., Schmid M. Synteny conservation of the Z chromosome in 14 avian species (11 families) supports a role for Z dosage in avian sex determination. Cytogenet. Genome Res. 2008;122(2):150-156.

Nanda I., Shan Z., Schartl M., Burt D.W., Koehler M., Nothwang H.G., Grützner F., Paton I.R., Windsor D., Dunn I., Engel W., Staeheli P., Mizuno S., Haaf T., Schmid M. 300 million years of conserved synteny between chicken Z and human chromosome 9. Nat. Genet. 1999;21(3):258-259.

Nie W., O'Brien P.C., Fu B., Wang J., Su W., He K., Bed'Hom B., Volobuev V., Feguson-Smith M.A., Dobigny G., Yang F. Multidirectional chromosome painting substantiates the occurrence of extensive genomic reshuffling within Accipitriformes. BMC Evol. Biol. 2015;15(1):205.

Olsen K.M., Larsson H. Terns of Europe and North America. L.: Christopher Helm Publishers, 1995.

Otto S.P., Michalakis Y. The evolution of recombination in changing environments. Trends Ecol. Evol. 1998;13(4):145-151.

Pala I., Naurin S., Stervander M., Hasselquist D., Bensch S., Hansson B. Evidence of a neo-sex chromosome in birds. Heredity. 2012; 108(I. 3):264-272.

Pardo-Manuel de Villena F., Sapienza C. Recombination is proportional to the number of chromosome arms in mammals. Mamm. Genome. 2001;12(4):318-322.

Peters A.H., Plug A.W., van Vugt M.J., de Boer P. A drying-down technique for the spreading of mammalian meiocytes from the male and female germline. Chromosome Res. 1997;5(1):66-71.

Peterson D.G., Stack S.M., Healy J.L., Donohoe B.S., Anderson L.K. The relationship between synaptonemal complex length and genome size in four vertebrate classes (Osteicthyes, Reptilia, Aves, Mammalia). Chromosome Res. 1994;2(2):153-162.

Pigozzi M.I. Distribution of MLH1 foci on the synaptonemal complexes of chicken oocytes. Cytogenet. Genome Res. 2001;95(3-4): 129-133.

Pigozzi M.I. Diverse stages of sex-chromosome differentiation in tinamid birds: evidence from crossover analysis in Eudromia elegans and Crypturellus tataupa. Genetica. 2011;139(6):771-777.

Pigozzi M.I., Solari A.J. Extreme axial equalization and wide distribution of recombination nodules in the primitive ZW pair of Rhea americana (Aves, Ratitae). Chromosome Res. 1997;5(6):421-428.

Pigozzi M.I., Solari A.J. The ZW pairs of two paleognath birds from two orders show transitional stages of sex chromosome differentiation. Chromosome Res. 1999;7(7):541-551.

Pigozzi M.I., Solari A.J. Meiotic recombination in the ZW pair of a tinamid bird shows a differential pattern compared with neognaths. Genome. 2005;48(2):286-290.

Reeves A. MicroMeasure: a new computer program for the collection and analysis of cytogenetic data. Genome. 2001;44(3):439-443.

Romanov M.N., Farré M., Lithgow P.E., Fowler K.E., Skinner B.M., O'Connor R., Fonseka G., Backström N., Matsuda Y., Nishida C., Houde P., Jarvis E.D., Ellegren H., Burt D.W., Larkin D.M., Griffin D.K. Reconstruction of gross avian genome structure, organization and evolution suggests that the chicken lineage most closely resembles the dinosaur avian ancestor. BMC Genomics. 2014;15(1):1060.

Segura J., Ferretti L., Ramos-Onsins S., Capilla L., Farré M., Reis F., Oliver-Bonet M., Fernández-Bellón H., Garcia F., Garcia-Caldés M., Robinson T.J., Ruiz-Herrera A. Evolution of recombination in eutherian mammals: insights into mechanisms that affect recombination rates and crossover interference. Proc. Biol. Sci. 2013; 280(1771):20131945.

Shetty S., Griffin D.K., Graves J.A.M. Comparative painting reveals strong chromosome homology over 80 million years of bird evolution. Chromosome Res. 1999;7(4):289-295.

Solari A.J. Equalization of Z and W axes in chicken and quail oocytes. Cytogenet. Genome Res. 1992;599(1):52-56.

Solari A.J., Pigozzi M.I. Recombination nodules and axial equalization in the ZW pairs of the Peking duck and the Guinea fowl. Cytogenet. Genome Res. 1993;64(3-4):268-272.

Szczys P., Lamothe K.A., Druzyaka A., Poot M.J., Siokhin V., van der Winden J. Range-wide patterns of population differentiation of Eurasian Black Terns (Chlidonias niger niger) related to use of discrete post-nuptial staging sites. J. Ornithol. 2016;1-14.

Szczys P., Nisbet I.C.T., Wingate D.B. Conservation genetics of the Common Tern (Sterna hirundo) in the North Atlantic region; implications for the critically endangered population at Bermuda. Conserv. Genet. 2012;13(4):1039-1043.

Torgasheva A.A., Borodin P.M. Immunocytological analysis of meiotic recombination in the gray goose (Anser anser). Cytogenet. Genome Res. 2017. DOI 10.1159/000458741.

Turner J.M.A. Meiotic sex chromosome inactivation. Development. 2007;134:1823-1831.

Youds J.L., Boulton S.J. The choice in meiosis – defining the factors that influence crossover or non-crossover formation. J. Cell Sci. 2011;124(4):501-513.

Zhou Q., Wang J., Huang L., Nie W., Wang J., Liu Y., Zhao X., Yang F., Wang W. Neo-sex chromosomes in the black muntjac recapitulate incipient evolution of mammalian sex chromosomes. Genome Biol. 2008;9:R98.

Zhou Q., Zhang J., Bachtrog D., An N., Huang Q., Jarvis E.D., Gilbert M.T.P., Zhang G. Complex evolutionary trajectories of sex chromosomes across bird taxa. Science. 2014;346(6215):1246338.

Zickler D., Kleckner N. Recombination, pairing, and synapsis of homologs during meiosis. Cold Spring Harbor Perspect. Biol. 2015; 7(6):a016626.

Разнообразие и распространение мобильных генетических элементов в геномах морских беспозвоночных

М.В. Пузаков[1, 2] ✉, Л.В. Пузакова[1, 2], И.К. Захаров[3]

[1] Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт природно-технических систем», Севастополь, Россия
[2] Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского Российской академии наук», Севастополь, Россия
[3] Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

Мобильные генетические элементы (МГЭ) играют большую роль в изменении структуры генома и экспрессии генов. Все многообразие МГЭ подразделяется на два класса – ретротранспозоны и ДНК-транспозоны. У морских беспозвоночных МГЭ представлены последовательностями обоих классов. Они обнаружены в геномах видов всех основных таксонов этой группы животных. Среди представителей типа кишечнополостные (Cnidaria) в литературе описаны МГЭ у видов *Aurelia aurita*, *Acropora millepora*, *A. palmata*, *A. digitifera*, *Nematostella vectensis*. МГЭ среди плоских червей (Platyhelminthes) изучены у двух видов – *Stylochus zebra* и *Bdelloura candida*, а среди кольчатых червей (Annelida) – у вида *Capitella capitata*. Иглокожие (Echinodermata) в данной работе представлены видами *Strongylocentrotus purpuratus*, *S. franciscanus*, *S. drobachiensis*, *Tripneustes gratilla*, *Lytechinus pictus*, *L. variegatus*, *Arbacia punctulata* и *Eucidaris tribuloides*. Разнообразие МГЭ у моллюсков (Mollusca) рассмотрено на примерах видов *Mytilus galloprovincialis*, *Chione cancellata*, *Crassostrea gigas*, *C. virginica*, *Anadara trapezia*, *Aplysia californica*, *Gibbula cineraria*, *Littorina littorea* и *L. saxatilis*. Наиболее изучено распространение МГЭ у типа членистоногие (Arthropoda), этот таксон представлен работами по видам *Bythograea thermydron*, *Ventiella sulfuris*, *Maia brachydactila*, *Cancer pagurus*, *Pachygrapsus marmoratus*, *Penaeus monodon*, *P. vannamei*, *Litopenaeus stylirostris*, *Agononida laurentae*, *Galathea squamifera*, *Munida acantha*, *M. thoe*, *M. gregaria*, *M. zebra* и *Munidopsis recta, Eumunida annulosa*, *E. sternomaculata* и *Rimicaris exoculata*. У части хордовых (Chordata), не относящихся к подтипу Vertebrata, исследовано содержание МГЭ, изучены геномы видов *Ciona intestinalis*, *Oikopleura dioica* и *Branchiostoma floridae*. Рассмотрено разнообразие МГЭ, их свойства и роль в преобразовании структуры и изменении функции генов и геномов, в онтогенезе и в эволюции.

Ключевые слова: ДНК; геном; мобильные генетические элементы; транспозоны; ретротранспозоны; изменчивость; биологическое разнообразие; вид, гидробионты; морские беспозвоночные.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:
Пузаков М.В., Пузакова Л.В., Захаров И.К. Разнообразие и распространение мобильных генетических элементов в геномах морских беспозвоночных. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):269-283. DOI 10.18699/VJ16.16-o

HOW TO CITE THIS ARTICLE:
Puzakov M.V., Puzakova L.V., Zakharov I.K. Diversity and distribution of mobile genetic elements in marine invertebrates genomes. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(2):269-283. DOI 10.18699/VJ16.16-o

Received 17.03.2016
Accepted for publication 12.05.2016
Published online 21.11.2016
© AUTHORS, 2017

✉ e-mail: puzakov@ngs.ru

Diversity and distribution of mobile genetic elements in marine invertebrates genomes

M.V. Puzakov[1, 2] ✉, L.V. Puzakova[1, 2], I.K. Zakharov[3]

[1] Institute of Natural-Technical Systems, Sevastopol, Russia
[2] Institute of Marine Biology Research, Sevastopol, Russia
[3] Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

Mobile genetic elements (MGE) play an important role in genome structure and gene expression changes. All types of MGE are subdivided into two classes: retrotransposons and DNA transposons. MGEs were found in the genomes of all main taxa of marine invertebrates and are represented by both classes. MGEs were found in the genomes of Cnidaria species: *Aurelia aurita*, *Acropora millepora*, *A. palmata*, *A. digitifera* and *Nematostella vectensis*. MGEs were studied in two flatworms (Platyhelminthes) species, *Stylochus zebra* and *Bdelloura candida*. In Annelida taxa, MGEs were studied in *Capitella capitata*. Echinodermata were represented in the review study by the species *Strongylocentrotus purpuratus*, *S. franciscanus*, *S. drobachiensis*, *Tripneustes gratilla*, *Lytechinus pictus*, *L. variegatus*, *Arbacia punctulata*, and *Eucidaris tribuloides*. The quantity of MGEs in Mollusca was studied for the following species: *Mytilus galloprovincialis*, *Chione cancellata*, *Crassostrea gigas*, *C. virginica*, *Anadara trapezia*, *Aplysia californica*, *Gibbula cineraria*, *Littorina littorea*, and *L. saxatilis*. The type of Arthropoda is the most studied for MGE presence. MGE presence was studied for the following Arthropoda species: *Bythograea thermydron*, *Ventiella sulfuris*, *Maia brachydactila*, *Cancer pagurus*, *Pachygrapsus marmoratus*, *Penaeus monodon*, *P. vannamei*, *Litopenaeus stylirostris*, *Agononida laurentae*, *Galathea squamifera*, *Munida acantha*, *M. thoe*, *M. gregaria*, *M. zebra*, *Munidopsis recta*, *Eumunida annulosa*, *E. sternomaculata*, and *Rimicaris exoculata*. A part of Chordata taxon, which is not included in Vertebrata subtype, was studied too. This part was represented in the review by the species *Ciona intestinalis*, *Oikopleura dioica*, and *Branchiostoma floridae*. The diversity of MGEs and their characters and its role in the ontogenesis, evolution and changes of functions of genes and genomes were discussed.

Key words: DNA; genome; mobile genetic elements; transposons; retrotransposons; variation; biological diversity; species; hydrobionts; marine invertebrates.

Мобильные генетические элементы (МГЭ) – последовательности ДНК, способные к интеграции и перемещениям внутри хозяйского генома. МГЭ могут изменять первичную структуру ДНК (генов в частности), вмешиваться в работу генов и даже изменять их функцию, влиять на процессы регуляции транскрипции, вызывать хромосомные перестройки. Мобильные элементы не только перемещают (перемешивают!) нуклеотидные последовательности, индуцируют мутации и генерируют хромосомные перестройки, но также меняют эпигенетическую топологию эукариотического генома (Fedoroff, 2012). Спонтанные мутации, опосредуемые МГЭ, принято в последние десятилетия выделять в отдельный класс инсерционных мутаций.

Впервые мобильные генетические элементы обнаружила Б. МакКлинток. Изучая явление мозаицизма у кукурузы, возникающего в результате рекомбинации, она открыла «прыгающие гены», за что в 1983 г. ей была присуждена Нобелевская премия (McClintock, 1956; Peterson, 2013). С тех пор было обнаружено большое разнообразие МГЭ и показано их широкое распространение. На данный момент известно, что МГЭ составляют существенную часть геномной ДНК многих изученных организмов (Mobile DNA, 1989, 2002; Иващенко, Гришаева, 2009). Так, у млекопитающих полноразмерные МГЭ и их фрагменты составляют почти половину генома – 35–69 % (Lander et al., 2001; Waterston et al., 2002; de Koning et al., 2011), а у некоторых растений их содержание в геноме достигает 90 % (Feschotte et al., 2002; Kidwell, 2002; Сергеева, Салина, 2011). В то же время есть организмы, в геноме которых содержание МГЭ сравнительно низкое, например у иглобрюхих рыб оно не превышает 7 % (Guo et al., 2010).

Мобильные генетические элементы подразделяют на два основных класса, различающихся механизмом транспозиции (Wicker et al., 2007; Kapitonov, Jurka, 2008). К первому относят ретротранспозоны, перемещающиеся по геному с помощью механизма обратной транскрипции на основе транскрибируемого с них РНК-посредника, ко второму – ДНК-транспозоны, кодирующие собственную транспозазу, которая действует на уровне ДНК и узнает последовательность концов собственного элемента. Здесь следует подчеркнуть, что для процесса вырезания/встраивания ДНК-транспозонов в геноме обязательно должна присутствовать их полноразмерная копия, продуцирующая полноразмерную активную транспозазу.

Репликативный (с помощью РНК-посредника) способ транспозиции позволяет, во-первых, быстро увеличивать число копий элемента и, таким образом, приводить к увеличению размера генома (Pearce et al., 1996; SanMiguel et al., 1996; Kumar, Bennetzen, 1999); во-вторых, мутации, возникающие в результате инсерций ретротранспозонов, остаются стабильными, в отличие от мутаций, вызываемых ДНК-транспозонами, у которых мобильный элемент в результате транспозиции покидает исходный сайт с последующим встраиванием в другой локус (Georgiev, 1984; Geyer et al., 1986; Peifer, Bender, 1988; Сормачева, Блинов, 2011).

Чаще всего, МГЭ располагаются в гетерохроматиновых участках (Dimitri, Junakovic, 1999), где их перемещения не значимы для хозяйского организма. Они могут присутствовать и в эухроматиновых районах, где они рассеяны вокруг и внутри генов (Goodier, Kazazian, 2008) и в условиях клеточного гомеостаза сайты их локализации обычно остаются стабильными. Однако в условиях стрессовых воздействий на организм МГЭ могут перемещаться из гетерохроматиновых районов в эухроматиновые и интегрироваться в работающие гены (Чересиз и др., 2008).

Роль МГЭ в геноме активно изучается во многих аспектах. Известно, что МГЭ могут участвовать в различных значимых процессах, происходящих в клетке, что свидетельствует в пользу идеи коэволюции МГЭ и геномов организмов. Мобильные генетические элементы могут включаться в процессы регуляции эукариотических систем, становясь одним из их компонентов (Robertson, Zumpano, 1997; Cordaux et al., 2006; Gentles et al., 2007; Jurka, 2008; Specchia et al., 2010). Также к таким процессам относят достраивание теломер хромосом у дрозофилы мобильными элементами *HeT-A* и *TART* (Lim, Simmons, 1994) или активное поведение МГЭ в геноме в условиях стресса.

Известно большое количество стрессовых факторов, как внутриклеточных, так и внешних, при воздействии которых была зафиксирована индукция перемещений МГЭ. Это высокие и низкие температуры, уровень pH, ультрафиолетовое излучение, магнитные поля, гамма-радиация, различные химические соединения, аутбридинг, инбридинг, инфекции, голодание и др. (Junakovic et al., 1986; Ратнер, Васильева, 1996; Handler, Gomez, 1997; Бубенщикова и др., 2002; Васильева и др., 2003; Захаренко и др., 2006; Коваленко и др., 2006; Чересиз и др., 2008; Юрченко и др., 2011).

Закономерным следствием повышенного мутагенеза, вызванного стрессом, является увеличение спектра генетического разнообразия. Тем самым повышается адаптивный потенциал популяции, что может способствовать видообразованию. Есть работы, в которых показано, что некоторые виды произошли благодаря активности МГЭ (Fontdevila, 2005).

Мобильные генетические элементы широко изучены у наземных организмов, тогда как у морских организмов их представленность и динамика описаны значительно меньше. Исследование распространения и разнообразия МГЭ у морских беспозвоночных способствует большему пониманию как молекулярной эволюции геномов, так и эволюционной истории видов, с учетом древности происхождения и филогенетической отдаленности представителей этой группы. Здесь же возникает вопрос о явлении горизонтального переноса и механизмов, с помощью которых он осуществляется.

На данный момент первичные последовательности полного генома определены для 23 представителей морских беспозвоночных из различных таксонов (табл. 1). При этом в литературных источниках МГЭ частично охарактеризованы только у семи из них. Еще для семи видов мобильные генетические элементы представлены в базе повторенных последовательностей RepBase (Jurka, 1998). В данной работе мы систематизировали и проанализировали результаты исследований МГЭ в геномах разных групп морских беспозвоночных.

Table 1. Marine invertebrates whose genomes have been sequenced

Phylum	Species	Reference	Detected TEs	
			In papers	RepBase
Sponges	*Amphimedon queenslandica*	Srivastava et al., 2009	–	+
Ctenophora	*Mnemiopsis leidyi*	Ryan et al., 2013	–	–
	Pleurobrachia bachei	Moroz et al., 2014	–	–
Placozoa	*Trichoplax adhaerens*	Srivastava et al., 2008	–	+
Cnidarians	*Nematostella vectensis*	Putnam et al., 2007	Bao et al., 2009	+
	Aiptasia pallida	Baumgarten et al., 2015	–	–
	Acropora digitifera	Shinzato et al., 2011	–	+
Echinoderms	*Acanthaster planci*	Baughman et al., 2014	–	–
	Strongylocentrotus purpuratus	Sodergren et al., 2006	Liebermann et al., 1983; Hoffman-Liebermann et al., 1985; Cohen et al., 1985; Springer et al., 1991; Goodwin, Poulter, 2001; Kapitonov, Jurka, 2005; Bao et al., 2009	+
Hemichordates	*Saccoglossus kowalevskii*	Simakov et al., 2015	–	+
	Ptychodera flava		–	–
Ringworms	*Capitella teleta*	Simakov et al., 2013	–	+
Molluscs	*Crassostrea gigas*	Zhang et al., 2012	Zhang et al., 2012	+
	Lottia gigantea	Simakov et al., 2013	–	+
	Octopus bimaculoides	Albertin et al., 2015	–	–
Brachiopods	*Lingula anatina*	Luo et al., 2015	–	–
Arthropods	*Neocaridina denticulata*	Kenny et al., 2014	–	–
	Limulus polyphemus	Nossa et al., 2014	–	+
	Strigamia maritima	Chipman et al., 2014	–	–
Chordates	*Ciona intestinalis*	Dehal et al., 2002	Simmen, Bird, 2000; Terrat et al., 2008; Bao et al., 2009	+
	Ciona savignyi	Small et al., 2007	Bao et al., 2009	+
	Oikopleura dioica	Seo et al., 2001	Volff et al., 2004	+
	Branchiostoma floridae	Putnam et al., 2008	Kapitonov, Jurka, 2005; Osborne et al., 2006; Bao et al., 2009	+

Классификация мобильных генетических элементов

Классификация МГЭ основана преимущественно на структурно-функциональных различиях (Wicker et al., 2007; Kapitonov, Jurka, 2008). Все описанные к настоящему времени мобильные генетические элементы поделены на два класса: (I) ретротранспозоны и (II) ДНК-транспозоны (табл. 2). Представители класса I используют в качестве посредника для перемещения и копирования молекулы РНК, при этом последовательность РНК-посредника переводится в экстрахромосомную ДНК с помощью обратной транскриптазы, кодируемой самими элементами, с последующим встраиванием в геном. Такой механизм называют «копирование–вставка» (copy-and-paste) либо «ДНК-РНК-ДНК». Этот класс делят на четыре подкласса: LTR-ретротранспозоны, non-LTR-ретротранспозоны, *DIRS*- и *PLE*-элементы. Элементы первого подкласса фланкированы с обеих сторон длинными концевыми повторами (LTR – long terminal repeat), в центральной части локализованы гены, кодирующие белки, необходимые для копирования, и антигены групповой специфичности. Некоторые представители этого подкласса имеют полноценные гены, кодирующие белки вирусного капсида; их относят к семейству ретровирусов. Следующий подкласс non-LTR-ретротранспозонов включает в себя два надсемейства — автономные (*LINE* – long interspersed nuclear element) и неавтономные (*SINE* – short interspersed nuclear element) ретропозоны. Элементы надсемейства *LINE* так же, как и LTR-ретротранспозоны, имеют гены (две рамки считывания), кодирующие ферменты, необходимые для их копирования. Элементы надсемейства *SINE* не способны перемещаться самостоятельно, они используют для этих целей ферментативный аппарат *LINE*-ретротранспозонов. Третий и четвертый подклассы ретротранспозонов включают в себя элементы с необычной структурой, объединяющей в себе признаки двух других подклассов – это

Table 2. Classification of mobile genetic elements (Wicker et al., 2007; Kapitonov, Jurka, 2008)

Class	Subclass	Representatives
I. Retrotransposons	LTR retrotransposons and retroviruses	*Gypsy*, *Copia*, *Ty3*, *Ty5*, *HIV*, *MLV*, *Mdg1*, *Mdg2*, *Micropia*, *Skippy*, *Boty*
	Non-LTR retrotransposons (retroposons)	*LINEs*: *F*, *G*, *Doc*, *L1*, *cin4*, *ingi*, *Het-A*, *Jockey*, *TART*, *Helena*
		SINEs: *Alu*, *S1*, *B1*, *MIR*
	Retrotransposons DIRS	*AlDIRS1*, *TcDIRS1*, *DrDIRS1*, *PAT*
	Retrotransposons PLE	*Penelope*
II. DNA transposons	TIR DNA transposons	*IS*, *P*, *hobo*, *Tc1*, *Mariner*, *PiggyBac*, *Hapfer*, *Tam1*, *Tgm1*
		MITE
	Helitron	*Helitron*
	Polintons	*Polinton* (*Maverick*)

DIRS-подобные ретротранспозоны и *Penelope*-подобные (*PLE*) элементы.

Мобильные генетические элементы II класса используют для перемещения механизм, названный «вырезание–вставка» (cut-and-paste) или еще «ДНК-ДНК», при этом ДНК мобильного элемента вырезается из одного района и встраивается в другой район генома хозяина. Здесь выделяют три основные группы: классические ДНК-транспозоны, хелитроны (*Helitrons*) и полинтоны (*Polintons*). Первый подкласс включает в себя типичные ДНК-транспозоны, имеющие концевые инвертированные повторы (terminal inverted repeat) и ген, который кодирует транспозазу, и перемещающиеся с помощью механизма «вырезание–вставка». К этой же группе относятся короткие неавтономные и не имеющие транспозазы элементы *MITE* (miniature inverted repeat transposable elements), которые являются неклассифицируемыми, делетированными формами других семейств ДНК-транспозонов. Хелитроны – это особый тип транспозонов, которые перемещаются по типу катящегося кольца (rolling-circle DNA transposons). Полинтоны – самосинтезирующиеся ДНК-транспозоны.

Мобильные элементы у морских беспозвоночных

Большинство работ по исследованию распространения, разнообразия и стрессового ответа МГЭ выполнено на модельных объектах, таких как дрозофила, кукуруза или дрожжи. Популяции морских животных, и в частности беспозвоночных, на предмет МГЭ изучены значительно меньше. В настоящее время МГЭ описаны у стрекающих (Arkhipova, Meselson, 2000; Bao et al., 2009; Wang et al., 2010), плоских и кольчатых червей (Robertson, 1997; Bao et al., 2009), морских ежей (Liebermann et al., 1983; Cohen et al., 1985; Hoffman-Liebermann et al., 1985; Springer et al., 1991; Goodwin, Poulter, 2001; Kapitonov, Jurka, 2005; Bao et al., 2009), двустворчатых и брюхоногих моллюсков (Arkhipova, Meselson, 2000; Gaffney et al., 2003; Kourtidis et al., 2006; Panchin, Moroz, 2008; Bao et al., 2009; McInerney et al., 2011), ракообразных (Halaimia-Toumi et al., 2004; Casse et al., 2006; Bui et al., 2007; de la Vega et al., 2007; Hizer et al., 2008; Terrat et al., 2008; Piednoël, Bonnivard, 2009; Piednoël et al., 2013; Sakaew et al., 2013) и хордовых, не относящихся к подтипу позвоночных (Simmen, Bird, 2000; Volff et al., 2004; Kapitonov, Jurka, 2005; Osborne et al., 2006; Terrat et al., 2008; Bao et al., 2009). Среди мобильных генетических элементов, обнаруженных у морских беспозвоночных, присутствуют представители обоих классов – как ретротранспозоны, так и ДНК-транспозоны (Доп. материалы[1]).

Стрекающие (Cnidaria)

Наиболее низкоорганизованный таксон морских беспозвоночных, у которого изучена представленность МГЭ, – тип Стрекающие. Мобильные генетические элементы обнаружены у кораллов *Acropora millepora*, *Acropora palmata* и *Acropora digitifera* (Wang et al., 2010), актинии *Nematostella vectensis* (Putnam et al., 2007; Bao et al., 2009) и медузы *Aurelia aurita* (Arkhipova, Meselson, 2000).

У медузы *A. aurita* при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР) с вырожденными праймерами были найдены ДНК-транспозоны суперсемейства *mariner* и *LINE*-подобные ретротранспозоны (Arkhipova, Meselson, 2000).

При исследовании геномов кораллов, *A. millepora* и *A. palmata*, были обнаружены неавтономные ДНК-транспозоны, имеющие высокое сходство с *MITE*. Однако вследствие присутствия некоторых отличительных особенностей авторы выделили их в отдельную группу, названную *CMITE*. У этих элементов большей консервативностью обладает внутренняя область, тогда как инвертированные концевые повторы менее консервативны. Также выяснилось, что элементы *CMITE* могут образовывать тандемные повторы – это нехарактерный способ увеличения числа копий для *MITE*. По степени гомологии элементы *CMITE* были поделены на шесть групп (*FAI–FAVI*). Для всех групп была характерна длина ~100 п. н. Кроме неавтономных ДНК-транспозонов у *A. millepora* описаны шесть элементов, имеющих гомологию с транспозонами *piggyBac* и названных *AmiPB*, три из них имели функциональные транспозазы. Между элементами *AmiPB1* и *CMITE* группы *FAI* также обнаружено сходство, на основании которого предполагается, что *CMITE FAI* для перемещения ис-

[1] Дополнительные материалы см. в Приложении по адресу: http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/pict-2017-21/appx4.pdf

пользуют транспозиционный аппарат *AmiPB1* (Wang et al., 2010). На наш взгляд, сходство между этими элементами (идентичные концевые инвертированные повторы) позволяет классифицировать *CMITE FAI* как неавтономную (делетированную) копию элемента *AmiPB1* и присваивать ей соответствующее название, например *AmiPB1-N*.

Помимо этого, было установлено, что в результате ошибки эксцизии *CMITE* образовался новый МГЭ – *CMITE-IN* – с прямыми повторами и дупликацией специфического сайта встраивания (TTAA), фланкирующими основную структуру *CMITE* (Wang et al., 2010).

Определение последовательности генома другого вида коралла, *A. digitifera*, выявило, что 12.9 % от общего размера генома занимают МГЭ (Shinzato et al., 2011).

Секвенирование генома морской анемоны (актинии) *N. vectensis* позволило установить, что более 25 % генома состоит из повторяющихся элементов –мутировавших неактивных мобильных элементов – как ДНК-транспозонов, так и LTR- и non-LTR-ретротранспозонов (Putnam et al., 2007). Позднее у *N. vectensis* были обнаружены ДНК-транспозоны, принадлежащие к новому семейству *Sola*, впервые описанному у пресноводной гидры *Hydra magnapapilata* (Bao et al., 2009). Элементы этого семейства по своей структуре близки к МГЭ суперсемейства *mariner*, кодируют транспозазу DDD-типа, имеют 4-нуклеотидный дуплицируемый сайт встраивания и делятся на три группы: *Sola1*, *Sola2* и *Sola3*. В геноме актинии обнаружены представители всех трех групп элементов *Sola* (см. Доп. материалы), количество копий колеблется от 1 до 8. Все элементы имеют черты (протяженность, длина концевых инвертированных повторов и размер транспозазы), характерные для своих групп, и были описаны впервые (Bao et al., 2009), кроме *Sola3-3_NV*, который был обнаружен ранее (Putnam et al., 2007), но отнесен к неклассифицируемому семейству повторенных последовательностей *NVREP5*.

Плоские черви (Platyhelminthes)

У морских плоских червей *Stylochus zebra* (свободноживущий вид) и *Bdelloura candida* (комменсал камчатского краба) с помощью вырожденных праймеров к консервативным районам гена, кодирующего транспозазу у МГЭ *mariner*, обнаружены несколько ДНК-транспозонов. У *S. zebra* выделены четыре последовательности: *Stylochus.zebra.2*, *Stylochus.zebra.4*, *Stylochus.zebra.5*, *Stylochus.zebra.6*. У первой последовательности отсутствует гомология к известным группам *mariner*, и она, предположительно, представляет новое подсемейство *mariner*-подобных элементов. *Stylochus.zebra.4* имеет наибольшее сходство с подсемейством *cecropia*, тогда как две последних относятся к группе *lineata* и, возможно, представляют один транспозон (Robertson, 1997).

У *Bd. candida* были выделены пять последовательностей. Их нуклеотидная идентичность составила 98 %, на основании чего авторы отнесли их к одному подсемейству. С другими известными группами ДНК-транспозонов *mariner* данный элемент показал очень низкую степень сходства – всего 25–37 % (Robertson, 1997), что, по сути, мало отличается от гомологии двух случайно сгенерированных последовательностей.

Кольчатые черви (Annelida)

Для кольчатых червей, обитающих в море, в публикациях представлены данные только о полихете, класс Многощетинковые черви, *Capitella capitata*. В геноме этого организма обнаружена одна копия МГЭ семейства *Sola – Sola1-1_CC*. Этот элемент имеет протяженность 6259 п. н., что длиннее, чем средние размеры (2–5 т. п. н.), свойственные группе *Sola1*. Инвертированные концевые повторы несколько короче (29 п. н.) по сравнению со средними значениями (30–60 п. н.). Размер транспозазы у этого элемента составляет 552 аминокислотных остатка (Bao et al., 2009).

Таким образом, исследования представленности ДНК-транспозонов у морских плоских и кольчатых червей практически не проводились, а ретротранспозонов не коснулись вовсе. Однако эти данные помогли бы лучше изучить распространенность и эволюционную динамику МГЭ в популяциях морских гидробионтов.

Иглокожие (Echinodermata)

Среди иглокожих достаточно широко изучен на предмет представленности МГЭ геном морского ежа *Strongylocentrotus purpuratus*. В наиболее ранних работах у этого организма обнаружены мобильные элементы *TU*, принадлежащие к семейству *foldback* (Liebermann et al., 1983; Hoffman-Liebermann et al., 1985), а также семейство повторяющихся последовательностей *Tsp*, размером до 1.3 т. п. н. и насчитывающее около 1 тыс. копий в геноме (Cohen et al., 1985). Структурный анализ повторов *Tsp* показал, что отдельные последовательности сохранили потенциальную способность к транспозициям.

M.S. Springer с коллегами (1991) описали семейство ретротранспозонов морских ежей, которые принадлежат к суперсемейству *Ty3/Gypsy*. *pol*-регион этих элементов включает гены протеиназы, обратной транскриптазы (ревертазы), РНКазы H и интегразы. Поскольку эта группа ретротранспозонов очень похожа на ретровирусы, они были названы *SURL* (sea urchin retroviral-like) элементы. Данные элементы были обнаружены у восьми видов морских ежей: *S. purpuratus*, *Strongylocentrotus franciscanus*, *Strongylocentrotus drobachiensis*, *Tripneustes gratilla*, *Lytechinus pictus*, *Lytechinus variegatus*, *Arbacia punctulata* и *Eucidaris tribuloides*.

Полная последовательность ДНК *SURL1-3(Tg)*-элемента, обнаруженного у *T. gratilla*, имеет протяженность 5266 п. н., включая LTR (254 п. н.). Последовательность дуплицируемого сайта встраивания – CCACC. Открытая рамка считывания длиной 3927 п. н. включает *gag*- и *pol*-регионы. *pol*-регион содержит гены протеиназы, обратной транскриптазы (ревертазы), РНКазы H и интегразы. Сравнение консервативных участков ретротранспозонов *SURL* у изучаемых видов морских ежей показало, что инсерция активных элементов в геномы данного таксона произошла по меньшей мере 200 млн лет назад (Springer et al., 1991).

Позднее филогенетические исследования ретротранспозонов *SURL* были проведены у 33 видов класса Echinoidea. Для сравнения был выбран фрагмент (263 п. н.) региона, кодирующего обратную транскриптазу. Полученные данные в целом коррелировали с филогенией таксона. Но, несмотря на это, были установлены четыре

случая возможного горизонтального переноса (Gonzalez, Lessios, 1999).

У морского ежа *S. purpuratus* были идентифицированы *DIRS1*-подобные элементы, названные *SpD1–SpD5*. Кодируемые ими обратные транскриптазы имели специфичные консервативные домены. Однако сиквенсы были недостаточными для того, чтобы воссоздать последовательность полноразмерных элементов и тем самым определить структуру данных МГЭ (Goodwin, Poulter, 2001).

Далее у морского ежа *S. purpuratus* обнаружили ДНК-транспозоны суперсемейства *Transib* (Kapitonov, Jurka, 2005). Автономные элементы *Transib* имеют протяженность 3–4 т. п. н. и кодируют транспозазу (~700 аминокислотных остатков), которая отличается от транспозаз, кодируемых ДНК-транспозонами других суперсемейств. Для этих МГЭ характерны 5-п. н.-дуплицируемые сайты встраивания (Kapitonov, Jurka, 2003). ДНК-транспозон морского ежа *Transib1_SP* был первым элементом этого суперсемейства, обнаруженным вне таксона насекомых. Длина *Transib1_SP* составляет 4 132 п. н. Эта последовательность фланкирована дуплицируемыми сайтами встраивания CGGCG. Ген, кодирующий транспозазу (676 аминокислотных остатков), состоит из двух экзонов (Kapitonov, Jurka, 2005).

У морского ежа также были обнаружены представители двух групп ДНК-транспозонов семейства *Sola* (*Sola1*, *Sola2*), число копий которых варьирует от одного до трех (Bao et al., 2009). Хотя большинство представителей *Sola1* имеют среднюю протяженность 2–5 т. п. н., элементы *Sola1-1_SP* и *Sola1-2_SP*, обнаруженные у *S. purpuratus*, имеют более значительные размеры – 10.3 т. п. н и 10 т. п. н. соответственно. При этом длины инвертированных концевых повторов (30 п. н.) и транспозаз (737 и 800 аминокислотных остатков соответственно) характерны для этой группы. Элементы из второй группы, *Sola2-1_SP* и *Sola2-2_SP*, имеют общую протяженность 4799 п. н. и 4615 п. н., инвертированные концевые повторы по 11 п. н. и длину транспозазы 681 и 739 аминокислотных остатков соответственно, что характерно для МГЭ *Sola2* (Bao et al., 2009).

В этой же работе у морского ежа были описаны транспозоны, принадлежащие к новому семейству *Zator* (Bao et al., 2009). Элементы данного семейства кодируют транспозазу (~600–800 аминокислотных остатков) и фланкированы короткими инвертированными концевыми повторами (25–34 п. н.) и 3-п. н.-дуплицируемым сайтом встраивания. Вследствие существенного сходства между транспозазами МГЭ *Zator* и *mariner/Tc1/Pogo* транспозоны *Zator* могут рассматриваться как члены суперсемейства *mariner*. Однако филогенетические исследования демонстрируют, что транспозоны *Zator* и элементы суперсемейства *mariner* развивались независимо друг от друга из различных бактериальных транспозонов (*TP36* и *IS630* соответственно).

Моллюски (Mollusca)

В изучение представленности МГЭ вовлечено только два класса моллюсков: двустворчатые (Bivalvia) и брюхоногие (Gastropoda). Первые свидетельства о наличии МГЭ у морских двустворчатых моллюсков появились более 15 лет назад, когда у представителей вида *Chione cancellata* были найдены транспозаза, сходная с транспозазой элементов суперсемейства *mariner*, и ревертазы, подобные ревертазам элементов *LINE* и *Gypsy* (Arkhipova, Meselson, 2000).

Позднее у восточной устрицы *Crassostrea virginica* при изучении генома было обнаружено около 20 копий нуклеотидных последовательностей, названных *CvA* и имеющих субтерминальные инвертированные повторы; тетрануклеотидный микросателлитный регион, дуплицируемый сайт встраивания AA и тандемно повторенный основной элемент. У моллюска *Anadara trapezia* обнаружен элемент *Ana-1* с аналогичной структурой. Эти элементы обладают сходной структурой с повторенными последовательностями *Tsp* морского ежа. Предполагается, что повторяющиеся элементы *CvA* и *Ana-1* – члены нового семейства неавтономных *MITE*-подобных элементов, которое авторы (Gaffney et al., 2003) назвали *pearl*.

У средиземноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* были охарактеризованы три новые повторяющиеся последовательности, названные *Mg1*, *Mg2* и *Mg3*, с длиной мономера 169, 260 и 70 п. н. соответственно. В целом все три повтора составляют примерно 7.8 % генома *M. galloprovincialis*. Повторяющаяся область *Mg1* и ее фланкирующие последовательности демонстрируют значительное сходство с мобильным генетическим элементом *CvE* семейства *pearl*, обнаруженным в геноме восточной устрицы (*Crassostrea virginica*). Таким образом, вся гомологичная область, обозначенная *MgE*, – это первый предполагаемый мобильный элемент, описанный у мидии (Kourtidis et al., 2006).

В 2012 г. была полностью прочитана нуклеотидная последовательность генома тихоокеанской устрицы *Crassostrea gigas* (Zhang et al., 2012). Секвенирование показало, что геном устрицы очень полиморфен и богат повторяющимися последовательностями, среди которых есть мобильные элементы, обладающие транспозиционной активностью. Свыше 62 % обнаруженных повторов не могут быть отнесены к категории известных. Было обнаружено большое количество фрагментов генов транспозазы (359) и обратной транскриптазы (779), а также свыше 157 тыс. копий элементов неавтономных ДНК-транспозонов *MITEs*, что составляет 8.8 % генома *C. gigas*.

Необычные результаты получены при изучении генома брюхоногого моллюска *Aplysia californica*, у которых транскрипты имеют гомологию с N-концевой частью гена позвоночных *RAG1* (Panchin, Moroz, 2008). До этого предполагалось, что N-концевая часть RAG1 получена от морских беспозвоночных, морского ежа и ланцетника, у которых были обнаружены белки с неизвестной функцией, имеющие высокую гомологию с данной частью RAG1 (Kapitonov, Jurka, 2005). Однако анализ транскриптов у *A. californica* показал, что они – не известные ранее ДНК-транспозоны, имеющие все структурные характеристики МГЭ: инвертированные концевые повторы и дуплицируемый сайт встраивания. Эти элементы были названы *N-RAG*-транспозонами (*N-RAG-TP*). Инвертированые концевые повторы этих транспозонов отличаются высокой степенью гомологии с консервативными сигнальными последовательностями RSS, а транспозаза имеет сходство с N-концевой частью RAG1.

Семейство *N-RAG-TP* в геноме *A. californica* насчитывает более 50 копий, с более 90 % идентичности с полноразмерной консенсусной последовательностью длиной 3425 п. н. Было обнаружено несколько случаев, когда последовательности *N-RAG-TP* были включены в интроны активных генов (Panchin, Moroz, 2008).

Кроме того, у аплизии были описаны мобильные генетические элементы двух групп семейства *Sola*. Транспозон *Sola1-1_AC*, представленный в гаплоидном геноме 25 копиями, имеет характерную для группы *Sola1* протяженность 4097 п. н. при сравнительно коротких (26 п. н.) инвертированных концевых повторах. Размеры элемента *Sola2-1_AC* (12120 п. н.) более чем в два раза превышают средние для группы *Sola2* (3–5 т. п. н.). У *A. californica* обнаружено две копии этого транспозона (Bao et al., 2009).

Также есть данные о наличии у *Aplysia californica* транспозона *Zator-1_AC*, принадлежащего к семейству *Zator.* Однако каких-либо характеристик этого МГЭ в работе не приведено (Bao et al., 2009).

При сравнительном геномном анализе микросателлит-содержащих последовательностей общей протяженностью 47.2 т. п. н. у трех видов морских брюхоногих моллюсков (*Gibbula cineraria*, *Littorina littorea* и *L. saxatilis*) обнаружены повторы, которые на основании сходства с известными МГЭ были сгруппированы в 12 семейств ДНК (McInerney et al., 2011).

У литорины *L. saxatilis* доля микросателлитных последовательностей, имеющих сходство с МГЭ, была наименьшей (3.2 %). Идентифицированы ДНК-транспозоны *MuDR* (*MULE*) и *Mu*-подобные элементы. У *L. littorea* доля микросателлитов, гомологичных МГЭ, была выше (19.7 %), при том что у этого вида идентифицировано наибольшее число различных мобильных генетических элементов: ДНК-транспозоны (*En/Spm* (*CACTA*), *mariner*, *hAT*, *Arnold*, *MuDR* (*MULE*)), LTR-реторотранспозоны (*Gypsy*) и non-LTR-ретротранспозоны (*LINE* и *SINEs*). Хотя у *G. cineraria* доля микросателлитных последовательностей, ассоциированных с МГЭ, была наибольшей (45.8 %), определено только шесть различных МГЭ (ДНК-транспозоны (*MITE*, хелитроны) и LTR-ретротранспозоны (*ERV1*, *ERV3*)), при этом все неавтономные. Наиболее часто встречающийся МГЭ у гиббулы – элемент *CvA*, принадлежащий к суперсемейству *MITE* и впервые описанный у устрицы *C. virginica* (Gaffney et al., 2003). В общей сложности при анализе микросателлитных повторов протяженностью 14.7 т. п. н. обнаружено 19 последовательностей, гомологичных элементу *CvA*. Филогенетическая консервативность *CvA* у двустворчатых и брюхоногих дает основание авторам предполагать, что этот элемент – древний МГЭ моллюсков, который послужил источником гетерохроматиновой сателлитной ДНК.

Второй наиболее распространенный МГЭ (четыре копии), обнаруженный у *G. cineraria*, – элемент, гомологичный последовательности хелитрона *DNAREP1_DYak*. Этот элемент (*DNAREP1_DYak*) длиной 793 п. н. первоначально был идентифицирован у *Drosophila yakuba* и является делетированным вариантом автономного элемента *Helitron-1_DYak*.

По приблизительным оценкам, брюхоногие значительно отличаются между собой по составу и доле автономных и неавтономных МГЭ. Одна из причин, по всей видимости, – различия в механизмах транспозиций разных типов МГЭ, а именно особенности фиксации в геноме (McInerney et al., 2011).

Членистоногие (Arthropoda)

Среди морских членистоногих исследования представленности мобильных генетических элементов коснулись преимущественно высших раков (Malacostraca). В геноме глубоководного гидротермального краба *Bythograea thermydron* обнаружены полноразмерные ДНК-транспозоны *Bytmar1*, относящиеся к МГЭ суперсемейства *mariner*. Доля гуанина-цитозина (%GC) у этих элементов (52.1–55.9 %) значительно превышала процентное содержание GC *mariner*-подобных элементов континентальных видов (31.8–49.1 %). Длина консенсусной последовательности *Bytmar1* составила 1298 п. н., а размер инвертированных концевых повторов – 37 п. н. Также авторы отмечают, что эти транспозоны кодируют три изоформы транспозазы длиной 349, 379 и 398 аминокислотных остатков (Halaimia-Toumi et al., 2004).

Позднее был описан еще ряд *Bytmar*-подобных элементов. Это *Vensmar1*, обнаруженный у гидротермального бокоплава *Ventiella sulfuris*; *Maibmar1* и *Canpmar1*, найденные у двух прибрежных видов: краба-паука *Maia brachydactila* и большого краба *Cancer pagurus* (Casse et al., 2006). У *C. pagurus* найдено шесть МГЭ суперсемейства *mariner* (*Canpmar1.1–Canpmar1.6*). Их протяженность варьирует в диапазоне от 1296 до 1353 п. н., при этом сходство последовательностей около 94 %. У *M. brachydactyla* идентифицировано семь *mariner*-подобных элементов (*Maibmar1.1–Maibmar1.7*), имеющих длину 1282–1303 п. н. Гомология между последовательностями этих элементов составляет > 95 %. У *V. sulfuris* обнаружено шесть МГЭ (*Vensmar1.1–Vensmar1.6*). Длины их последовательностей колеблются в диапазоне от 1288 до 1302 п. н., при этом сходство составляет > 90 %. Длина инвертированных концевых повторов у транспозонов *Canpmar1*, *Maibmar1* и *Vensmar1* составляет 31, 28 и 31 п. н. соответственно. Среднее значение %GC составляет 50.95 % (*Canpmar1*), 50.92 % (*Maibmar1*) и 53.64 % (*Vensmar1*).

У берегового краба *Pachygrapsus marmoratus* обнаружены девять полноразмерных ДНК-транспозонов *Pacmmar*, также принадлежащих к суперсемейству *mariner*. Элементы имеют нуклеотидные последовательности протяженностью от 1329 до 1386 п. н. с гомологией от 87 до 99 %. Элементы *Pacmmar1.1* и *Pacmmar1.2* имеют 99 и 100 % гомологии с консенсусной последовательностью соответственно. Два из девяти транспозонов *Pacmmar* кодируют предположительно функциональную транспозазу (Bui et al., 2007).

Анализ %GC у МГЭ суперсемейства *mariner* показал, что %GC в мобильных элементах прибрежных организмов слегка ниже, чем в мобильных элементах гидротермальных организмов и выше, чем наземных (Bui et al., 2007). Это свидетельствует о том, что филогенетически рассматриваемые МГЭ далеки друг от друга. Однако это может быть связано и с адаптивным значением геномов в целом, поскольку пара GC образует более прочную связь,

чем пара AT, и обогащенность GC у организмов, обитающих в гидротермальных источниках, возможно, связана с необходимостью защиты ДНК от высоких температур.

В результате изучения влияния стрессовых воздействий, характерных для морских обитателей, – гипоксии, гипертермии и гипоосмоса – на черную тигровую креветку *Penaeus monodon* обнаружено несколько non-LTR-ретротранспозонов. Исследователями было проанализировано около 4 тыс. случайных транскриптов гемоцитов креветки. В условиях стресса 3.1 % генов, соответствующих этим кДНК, дифференциально экспрессировались в ответ на воздействие стрессового фактора. Среди них 72 % не имели сходства с ранее известными генами, а из определенных последовательностей одной из наиболее представленных групп были гены non-LTR-ретротранспозонов (de la Vega et al., 2007).

Отмечено изменение экспрессии трех участков ДНК *P. monodon*, сходных с *pol*-регионом non-LTR-ретротранспозонов в условиях гипертермического стресса. Экспрессия одного участка ДНК, сходного с non-LTR-ретротранспозоном дрозофилы (*Drosophila melanogaster*), уменьшалась, а экспрессия двух других, сходных с non-LTR-ретротранспозоном *D. melanogaster* и *I* фактором *D. teissieri*, возрастала (de la Vega et al., 2007). Есть вероятность, что активация и репрессия связаны с пространственно близким размещением данных МГЭ к регуляторным участкам ДНК, реагирующим на тепловой шок.

Идентифицированы также три последовательности, экспрессия которых менялась при гипоосмотическом стрессе. Они имели сходство с *pol*-регионом двух non-LTR-ретротранспозонов *D. melanogaster* и одного (*MosquI-Aa2*) – комара *Aëdes aegypti*. Экпрессия этих последовательностей подавлялась сразу после воздействия гипоосмотических условий, затем восстанавливалась (de la Vega et al., 2007).

У креветок *Litopenaeus stylirostris* методом ПЦР определены три non-LTR-ретротранспозона. Исследование *in silico* генома *Litopenaeus vannamei* позволило определить еще шесть non-LTR-ретротранспозонов. Филогенетические исследования показали, что пять из девяти выявленных МГЭ относятся к новой монофилитической группе. Эта группа, в которую вошли элементы *L. stylirostris* и *L. vannamei*, наиболее близка к высокоактивной группе *RTE* non-LTR-ретротранспозонов. Другие три элемента относятся к группам ретротранспозонов *CR1* и *I*, еще один имеет существенное сходство с древними элементами *Penelope* (Hizer et al., 2008).

При изучении представленности ретротранспозонов *Ty1/Copia* у крабов семейства Galatheidae (*Agononida laurentae*, *Munida acantha*, *Munida thoe*, *Munida gregaria*, *Munidopsis recta*, *Galathea squamifera* и *Munida zebra*) и *Chirostylidae*, филогенетически близкой к ним группы (*Eumunida annulosa*, *Eumunida sternomaculata*), были выделены и описаны первые LTR-ретротранспозоны ракообразных, элементы *GalEa1*, *GalEa2* и *GalEa3* (Terrat et al., 2008). Полноразмерная последовательность определена у *E. annulosa*. Было показано, что *GalEa1* имеет длинные концевые повторы (124 п. н.) и внутренняя последовательность (4421 п. н.) включает в себя одну большую открытую рамку считывания, содержащую *gag*- и *pol*-регионы. Дальнейший анализ позволил обнаружить присутствие этих ретротранспозонов еще у шести изучаемых видов ракообразных. У *M. acantha* и *M. thoe* установить наличие элементов *GalEa1* не удалось.

В результате сравнения последовательностей доменов, кодирующих интегразу и ревертазу (IN-RT) элементов *GalEa1* у изучаемых крабов, установлено, что в последовательности *M. recta* (1568 п. н.) отсутствуют стоп-кодоны и сдвиги рамки считывания, что дает основание предполагать функциональность данных ферментов. Домены IN-RT элементов *GalEa1* у *E. sternomaculata* и *G. squamifera*, длиной 1568 и 1582 п. н. соответственно, нарушены сдвигами рамки считывания и/или стоп-кодонами. Также было показано, что в последовательностях IN-RT у *A. laurentae*, *M. gregaria*, *G. squamifera* и *M. zebra* в пределах доменов IN-RT присутствует делеция протяженностью 18 п. н., в элементах у *A. laurentae* (1478 п. н.) и *M. gregaria* (1494 п. н.) также обнаружена дополнительная делеция (54 п. н.). Наиболее короткая из изученных в данной работе последовательностей домена IN-RT элементов *GalEa1* описана у краба *M. zebra*, которая из-за множественных делеций имеет размер только 1404 п. н. Несмотря на эти различия, последовательности доменов IN-RT *GalEa1* имеют достаточно высокое сходство, которое колеблется от 69.1 для наиболее расходящихся последовательностей (между *M. zebra* и *G. squamifera*) до 98.8 % (между *A. laurentae* и *M. gregaria*). Поскольку филогенетический анализ указывает на несоответствие между наблюдаемой топологией и видовой филогенией, авторы предполагают, что обнаруженные различия связаны либо с присутствием еще не выявленных вариантов последовательностей МГЭ у рассматриваемых видов, либо следствием горизонтального переноса. Элементы *GalEa* были выделены в новую группу ретротранспозонов суперсемейства *Ty1/Copia*, которая, видимо, ограничена семейством Galatheidae (Terrat et al., 2008).

Позднее у *E. annulosa*, *A. laurentae* и *M. recta* были описаны *DIRS*-подобные ретротранспозоны (Piednoël, Bonnivard, 2009), которые в отличие от LTR-ретротранспозонов обнаружены у значительно меньшего числа видов. *DIRS*-подобные ретротранспозоны – особенная группа ретротранспозонов, поскольку их способ перемещения основан на использовании тирозиновой рекомбиназы, а не интегразы и протеиназы. Авторы изучали представленность *DIRS*-подобных ретротранспозонов у 25 видов десятиногих раков (Decapoda), занимающих различные ниши обитания в море. У 15 из исследуемых видов обнаружены *DIRS1*-подобные элементы, которые на основании филогенетических различий были поделены на 15 семейств (см. Доп. материалы).

В исследовании M. Piednoël и E. Bonnivard (2009) описано большое разнообразие *DIRS1*-подобных ретротранспозонов, при этом выделена новая, третья группа *AlDIRS1* в дополнение к ранее описанным *TcDIRS1* и *DrDIRS1*. Это первое исследование, которое показало, что ретротранспозоны суперсемейства *DIRS1* имеют широкое распространение в пределах одного большого отряда (десятиногие раки), а также большое разнообразие в семействе Alvinocarididae. На основании этих данных авторы делают заключение, что *DIRS1*-подобные элементы

имеют древнего предка внутри таксона Decapoda, далее они распространялись посредством горизонтального переноса.

Новый ретровирусоподобный элемент длиной 5 052 п. н., названный *ASDE* (abdominal segment deformity disease element), был обнаружен при секвенировании кДНК и ДНК, выделенной из брюшной нервной трубки креветок *Penaeus vannamei* с деформацией абдоминального сегмента. Элемент *ASDE* имеет семь предполагаемых открытых рамок считывания (ОРС). Одна ОРС (так называемый субдомен PENS) имеет аминокислотную последовательность, гомологичную домену GIY-YIG эндонуклеазы *Penelope*-подобных ретротранспозонов (*PLE*), и еще две, гомологичные гену обратной транскриптазы и гену РНКазы Н локуса *pol* non-LTR-ретротранспозонов (так называемый NLRS субдомен) (Sakaew et al., 2013).

Использование ПЦР с вырожденными праймерами и *in silico* подхода позволило определить 35 элементов суперсемейства *Copia* у 15 видов ракообразных и 46 элементов суперсемейства *Gypsy* у 18 видов ракообразных. В частности, охарактеризованы некоторые полноразмерные МГЭ у креветок *Rimicaris exoculata*: *CoRex1* (4949 п. н., LTR – 217 п. н.), *CoRex2* (4875 п. н., LTR – 133 п. н.) и *GyRex2* (5585, LTR – 358 п. н.). Для элементов *CoRex3* (> 4128 п. н.), *GyRex1* (4945 п. н.) и *GyRex3* (фрагмент 2698 п. н.) получены неполные последовательности. Установлено также, что элементы *Gypsy* представлены довольно часто и разнообразно, тогда как *Copia* гораздо более однородны (29 из 35 принадлежат к группе *GalEa*) и помимо этого либо видо-, либо линиеспецифичны (Piednoël et al., 2013).

Хордовые (Chordata)

Изучение геномной ДНК асцидии *Ciona intestinalis* протяженностью 1 млн п. н. позволило установить присутствие шести семейств МГЭ. Ретротранспозон *Cigr-1* имеет LTR длиной 245 п. н. и ОРС длиной 3630 п. н., кодирующую белки, соответствующие элементам суперсемейства *Ty3/Gypsy*. Обнаружены также два семейства non-LTR-ретротранспозонов – *Cili-1* и *Cili-2*. Первый имеет гомологию с МГЭ млекопитающих *L1*, а второй – с *Lian-Aa1*, найденным у *A. aegypti*. Наиболее представленным (40 тыс. копий) был элемент *Cics-1*, принадлежащий к МГЭ *SINE*. Этот элемент содержит два консервативных домена, разделенных богатой аденином последовательностью. Следующий по количеству копий элемент *Cimi-1* имеет A/T-богатую последовательность (193 п. н.), фланкированную инвертированными концевыми повторами (30 п. н.) и A/T-богатыми 2–4 п. н. предполагаемыми дуплецируемыми сайтами встраивания. У *C. intestinalis* также найден единичный элемент семейства *foldback* протяженностью 2444 п. н. Он имеет инвертированные концевые повторы с A/T-богатым внутренним доменом, массивом субповторов и фланкирующие домены на концах. Этот элемент – первый из МГЭ *foldback*, обнаруженный у хордовых (Simmen, Bird, 2000).

Сочетание экспериментальных и *in silico* подходов позволило идентифицировать у *C. intestinalis* еще ряд non-LTR-ретротранспозонов. Обнаружены МГЭ, имеющие сходство с группами *I* (9 копий), *LINE1* (22 копии), *LINE2* (24 копии), *LOA* (69 копий) и *R2* (13 копий). Элементы каждого из этих семейств продемонстрировали высокую консервативность как последовательностей, кодирующих обратную транскриптазу, так и общей структурной организации (Permanyer et al., 2003).

В нуклеотидных базах данных оболочника *Oikopleura dioica* найдены последовательности обратной транскриптазы, характерные для non-LTR-ретротранспозонов. Гипотетические МГЭ, имеющие эти последовательности, были объединены в уникальное семейство, которое было названо *Odin*, поскольку в результате филогенетического анализа не обнаружено существенного сходства ни с одной из известных групп non-LTR-ретротранспозонов. На основании известных последовательностей *O. dioica* не удалось воссоздать полноразмерную структуру ретротранспозонов *Odin*.

Всего обнаружено около 80 последовательностей обратной транскриптазы *Odin*, 30 % из них предположительно нефункциональны вследствие мутаций, приведших к сдвигу рамки считывания или появлению стоп-кодона. Степень гомологии между элементами *Odin* колебалась в диапазоне от < 60 % до > 90 %. На основании этого авторы предполагают, что *Odin* – достаточно древнее семейство non-LTR-ретротранспозонов (Volff et al., 2004).

Также в геноме оболочника *O. dioica* обнаружены несколько суперсемейств LTR-ретротранспозонов. Так, например, МГЭ *Ty3/Gypsy* продемонстрировали неожиданную вариабельность. В соответствии с филогенетическим анализом они были разделены на четыре основных семейства, названные от *Tor-1* до *Tor-4* (Volff et al., 2004). Эти элементы не только очень вариабельны, но и значительно отличаются от ретротранспозонов *Ty3/Gypsy* других организмов. Так, например, ни одна из четырех групп ретротранспозонов *Ty3/Gypsy*, обнаруженных у *C. intestinalis* (Simmen, Bird, 2000), не продемонстрировала значительного сходства с МГЭ *Tor*, что позволяет выделить эти элементы в отдельную группу.

Из 180 последовательностей обратной транскриптазы элементов *Tor* только две относятся к *Tor1*, тогда как элементы *Tor2*, *Tor3* и *Tor4* представлены примерно в равном количестве (~50). Степень сходства нуклеотидной последовательности между МГЭ групп *Tor2*, *Tor3* и *Tor4* варьировала от < 60 до 98–99 %. Два элемента *Tor1* продемонстрировали 70 % идентичности. Домены *gag* и *pol* были обнаружены у всех четырех групп. Также предполагается, что эти МГЭ утратили свою активность недавно или все еще активны и имеют древнее происхождение (Volff et al., 2004).

Помимо этого, у *O. dioica* обнаружены *Penelope*- и *DIRS1*-подобные ретротранспозоны (Volff et al., 2004).

В геномных базах данных асцидии *C. intestinalis* с помощью исследования *in silico* определены *GalEa*-подобные ретротранспозоны *Cico1* и *Cico2*. У элемента *Cico2* все открытые рамки считывания были нарушены смещением, тогда как у *Cico1* это нарушение было только между интегразой и протеиназой (Terrat et al., 2008).

В геномах оболочников так же, как и у многих других морских беспозвоночных, обнаружены МГЭ семейства *Sola*, *Sola1-1_CI* у *C. Intestinalis* и *Sola1-1_CS* и *Sola2-1_CS* у *Ciona savignyi*. Для элемента *Sola1-1_CI* определена

только частичная последовательность. Длины же транспозонов *Sola1-1_CS* и *Sola2-1_CS* оказались характерными для этого семейства МГЭ, 3315 и 4530 п. н. соответственно. Размер инвертированных концевых повторов составлял 45 и 576 п. н. Эти элементы также были представлены в небольшом количестве: *Sola1-1_CS* в трех и *Sola2-1_CS* в двух копиях (Bao et al., 2009).

У представителя другого таксона хордовых (Бесчерепные) – ланцетника *Branchiostoma floridae* – определены несколько *MITE* ДНК-транспозонов. Пять элементов, выявленных на основе анализа последовательности ДНК, были названы *LanceleTn-1*, *LanceleTn-2*, *LanceleTn-3a*, *LanceleTn-3b* и *LanceleTn-4*. На основании гомологии предполагается, что *LanceleTn-1* (число копий 2500, дуплицируемый локус 8 п. н., инвертированный концевой повтор 21, размер 433 п. н.) произошел от элементов суперсемейства *hAT*. Элементы *LanceleTn-3a* (количество копий 3600, дуплицируемый локус 9 п. н., инвертированные концевые повторы 21 п. н., размер 173 п. н.) и *LanceleTn-3b* (количество копий 2900, дуплицируемый локус 9 п. н., инвертированные концевые повторы 19 п. н., размер 205 п. н.) предположительно произошли от МГЭ суперсемейства *mutator*. Для элементов *LanceleTn-2* (количество копий 2200, дуплицируемый локус TA, инвертированные концевые повторы ≤59 п. н., размер 207 п. н.) и *LanceleTn-4* (количество копий 4800, дуплицируемый локус TA, инвертированные концевые повторы ≤53 п. н., размер 253 п. н.) сходство с известными ДНК-транспозонами не установлено. Высокая встречаемость этих элементов свидетельствует о том, что *MITE*, вероятно, – наиболее распространенный тип мобильного элемента у ланцетника, и, скорее всего, они имели существенное значение в эволюции генома ланцетника (Osborne et al., 2006).

Помимо *MITE*, у ланцетника описаны МГЭ еще двух семейств ДНК-транспозонов – *Sola* и *Zator*, которые, как и у других видов, представлены немногочисленно (Bao et al., 2009). Элемент *Sola2-1_BF* (4520 п. н.) имеет концевые инвертированные повторы 29 п. н. и длину транспозазы 675 аминокислотных остатков. Элементы из другой группы того же семейства *Sola3-1_BF*, *Sola3-2_BF* и *Sola3-3_BF* имеют длину 8912, 8070 и 6989 п. н. соответственно, при протяженных инвертированных концевых повторах (1124, 915 и 869 п. н.). Длины кодируемых ими транспозаз находятся в диапазоне 1100–1200 аминокислотных остатков.

Элемент *Zator-1_BF* имеет длину нуклеотидной последовательности 5481 п. н., инвертированные концевые повторы 33 п. н. и транспозазу длиной 804 аминокислотных остатка. Для другого элемента этого семейства, *Zator-2_BF*, известна только длина транспозазы (930 аминокислотных остатков) (Bao et al., 2009).

Разнообразие мобильных генетических элементов и эволюция видов

Всего открыто и описано 240 тыс. видов многоклеточных. Существует предположение, что от трех до девяти раз большее количество видов все еще ожидает своего открытия и описания (Mora et al., 2011). Морские организмы очень разнообразны и многочисленны. Надо признать, что область актуальных исследований, включающая изучение распространения МГЭ в геноме морских организмов, остается все еще малоизученной.

Исследование представленности МГЭ у морских беспозвоночных способствует большему пониманию как молекулярной эволюции геномов, так и эволюционной истории видов. Так, например, ретротранспозоны семейства *Copia* представлены в геномах многоклеточных гораздо реже, чем ретротранспозоны семейства *Gypsy*, при этом они еще и менее разнообразны (Llorens et al., 2009). Это может свидетельствовать о том, что элементы *Gypsy* оказались в процессе эволюции более успешными и их высокая фенотипическая пластичность позволила им распространиться гораздо шире, чем элементам *Copia*. Это подтверждается и данными, полученными при исследовании морских ракообразных. Элементы *Gypsy* представлены относительно часто и разнообразно, тогда как *Copia* гораздо более однородны (29 из 35 принадлежат к группе *GalEa*) и, помимо этого, оказались либо видо-, либо линиеспецифичны (Piednoël et al., 2013). Представленность *GalEa*-подобных элементов преобладает в пределах одного таксона (Malacostraca), хотя встречается и среди других эукариот, – от рыб до красных водорослей и, по всей видимости, является МГЭ водных организмов.

Большое значение имеют исследования вклада МГЭ в эволюцию организмов, в геномах которых они находятся или встраиваются благодаря горизонтальному переносу. Предполагается, что водная среда может способствовать более эффективному горизонтальному переносу МГЭ (Terrat et al., 2008), а это, в свою очередь, может приводить к повышению адаптивного потенциала популяций при изменениях окружающей среды.

Например, у *A. californica* был открыт мобильный генетический элемент *N-RAG-TP*, транспозаза которого имеет гомологию с N-концом белка RAG1, а инвертированные концевые повторы с – консервативными сигнальными последовательностями RSS (Panchin, Moroz, 2008). Еще до того, как гены RAG белков были выделены и секвенированы, было установлено сходство между механизмом системы соматической рекомбинации V(D)J и механизмом перемещений транспозонов. Соответственно, была предложена теория «RAG-транспозонов» (Sakano et al., 1979; Thompson, 1995; Fugmann et al., 2000), согласно которой компоненты системы V(D)J рекомбинации, как белки RAG1 (recombination-activating gene) и RAG2, так и консервативные сигнальные последовательности RSS (recombination signal sequence), были получены позвоночными благодаря горизонтальному переносу от древнего гипотетического «RAG-транспозона». Доказательств, подтверждающих это предположение, не было до того момента, пока не обнаружили транспозоны *Transib* (Kapitonov, Jurka, 2005), *Chapaev* (Kapitonov, Jurka, 2007) и, собственно, *N-RAG-TP*.

ДНК-транспозоны *Transib* были открыты у ряда беспозвоночных, в том числе и представителей морской фауны – морского ежа, *S. purpuratus*. Транспозазы элементов *Transib*, обнаруженных у африканского малярийного комара (*Anopheles gambiae*) и у дрозофилы (*Drosophila pseudoobscura*), имели высокую гомологию с С-концевой частью и каталитическими доменами RAG1. Также инвертированные концевые повторы этих транспозонов имели

сходство с сигнальными последовательностями RSS системы V(D)J рекомбинации (Kapitonov, Jurka, 2005). Таким образом, МГЭ, гипотетически сформировавшие систему V(D)J рекомбинации, способствовали устойчивости позвоночных к внешним биогенным факторам среды.

Свидетельства относительно горизонтального переноса присутствуют и в работах по изучению *mariner*-подобных элементов у гидротермальных ракообразных. Они основываются на высоком сходстве транспозонов (99.5 %), обнаруженных в геномах двух отдаленных таксонов – бокоплавов и десятиногих ракообразных (Casse et al., 2006). Также в филогенетических исследованиях ретротранспозонов *SURL* у класса Echinoidea (морские ежи) установлены четыре случая возможного горизонтального переноса (Gonzalez, Lessios, 1999).

Не менее значимы исследования влияния стресса на МГЭ. Показано, что транспозиции мобильных генетических элементов могут быть индуцированы стрессорными факторами внешней среды или колонизацией новых экологических ниш (Vieira et al., 2002; Чересиз и др., 2008). Также предполагается, что изменения в представленности МГЭ могут способствовать или быть связаны с появлением новых генотипов или линий, субпопуляций или популяций, рас или видов (Jurka et al., 2011).

Влияние стрессорных воздействий на активность МГЭ у морских беспозвоночных практически не изучалось. В работах по исследованию гипоксического, осмотического и термального стресса было показано изменение уровня экспрессии генов некоторых non-LTR-ретротранспозонов у черной тигровой креветки (de la Vega et al., 2007). Однако дифференциальная экспрессия генов МГЭ в условиях стресса лишь косвенно указывает на возможную индукцию транспозиций.

В целом исследования спектра представленности и динамики мобильных генетических элементов в геномах различных видов, в том числе в геномах организмов, которые еще не секвенированы, – сложная и актуальная задача в настоящее время и в перспективе (Nuzhdin, 1999; Kidwell, Lish, 2001; Huang et al., 2012; Rebollo et al., 2012; Syvanen, 2012). Решение этих задач сочетает в себе различные аспекты исследований, и здесь отметим лишь некоторые из них:

– изучение скорости инсерционного мутагенеза и факторов, регулирующих активность транспозиций различных типов транспозонов;
– вскрытие механизмов контроля транспозиций самими МГЭ и/или геномом хозяина;
– определение тканеспецифичности транспозиционной активности (генеративные и соматические клетки) и стадий онтогенеза, на которых происходят транспозиционные события;
– исследование такого события, как «доместикация» МГЭ, геномом хозяина в процессе создания коадаптированного генома, поскольку инсерционные мутации играют важную роль в эволюции и часто бывают мишенью отбора, хотя обыкновенно транспозоны в большинстве случаев вызывают негативные мутации и только иногда позитивные;
– выявление случаев индукции активности МГЭ экологическими факторами, повлекших (эволюционно-) значимые изменения в геноме хозяина, например изменение функции гена/генов;
– определение в каждом конкретном случае уровня функционального действия инсерции МГЭ и его роли в генерировании фенотипических различий;
– понимание значения роли транспозонов и горизонтального переноса генов в видообразовании.

Acknowledgments

This work was supported by State Budgeted Project 0012-2015-0001. The authors are grateful to O.V. Vaulin for valuable discussion.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Albertin C.B., Simakov O., Mitros T., Wang Z.Y., Pungor J.R., Edsinger-Gonzales E., Brenner S., Ragsdale C.W., Rokhsar D.S. The octopus genome and the evolution of cephalopod neural and morphological novelties. Nature. 2015;524(7564):220-224. DOI 10.1038/nature14668.

Arkhipova I., Meselson M. Transposable elements in sexual and ancient asexual taxa. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000;97(26):14473-14477. DOI 10.1073/pnas.97.26.14473.

Bao W., Jurka M.G., Kapitonov V.V., Jurka J. New superfamilies of eukaryotic DNA-transposons and their internal divisions. Mol. Biol. Evol. 2009;26(5):983-993. DOI 10.1093/molbev/msp013.

Baughman K.W., McDougall C., Cummins S.F., Hall M., Degnan B.M., Satoh N., Shoguchi E.. Genomic organization of Hox and ParaHox clusters in the echinoderm, *Acanthaster planci*. Genesis. 2014;52(12):952-958. DOI 10.1002/dvg.22840.

Baumgarten S., Simakov O., Esherick L.Y., Liew Y.J., Lehnert E.M., Michell C.T., Li Y., Hambleton E.A., Guse A., Oates M.E., Gough J., Weis V.M., Aranda M., Pringle J.R., Voolstra C.R. The genome of Aiptasia, a sea anemone model for coral symbiosis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2015;112(38):11893-11898. DOI 10.1073/pnas.1513318112.

Bubenshchikova E.V., Antonenko O.V., Vasil'eva L.V., Ratner V.A. Induction of MGE 412 transpositions in spermatogenesis of Drosophila males separately by heat and cold shock. Genetika = Genetics (Moscow). 2002;38(1):46-55. (in Russian)

Bui Q.T., Delaurière L., Casse N., Nicolas V., Laulier M., Chénais B. Molecular characterization and phylogenetic position of a new *mariner*-like element in the coastal crab, *Pachygrapsus marmoratus*. Gene. 2007;396(2):248-256. DOI 10.1016/j.gene.2007.03.004.

Casse N., Bui Q.T., Nicolas V., Renault S., Bigot Y., Laulier M. Species sympatry and horizontal transfers of *Mariner* transposons in marine crustacean genomes. Mol. Phylogenet. Evol. 2006;40(2):609-619. DOI 10.1016/j.ympev.2006.02.005.

Cheresiz S.V., Yurchenko N.N., Ivannikov A.V., Zakharov I.K. Transposable elements and stress. Inform. Vestnik VOGiS = The Herald of Vavilov Society for Geneticists and Breeding Scientists. 2008;12(1/2):217-242. (in Russian)

Chipman A.D., Ferrier D.E., Brena C., Qu J., Hughes D.S., Schröder R., Torres-Oliva M., Znassi N., Jiang H., Almeida F.C., Alonso C.R., Apostolou Z., Aqrawi P., Arthur W., Barna J.C., Blankenburg K.P., Brites D., Capella-Gutiérrez S., Coyle M., Dearden P.K., Du Pasquier L., Duncan E.J., Ebert D., Eibner C., Erikson G., Evans P.D., Extavour C.G., Francisco L., Gabaldón T., Gillis W.J., Goodwin-Horn E.A., Green J.E., Griffiths-Jones S.P., Grimmelikhuijzen C.J., Gubbala S., Guigó R., Han Y., Hauser F., Havlak P., Hayden L., Helbing S., Holder M., Hui J.H.L., Hunn J.P., Hunnekuhl V.S., Jackson L., Javaid M., Jhangiani S.N., Jiggins F.M., Jones T.E., Kaiser T.S., Kalra D., Kenny N.J., Korchina V., Kovar C.L., Kraus F.B., Lapraz F., Lee S.L., Jie Lv, Mandapat C., Manning G., Mariotti M.,

Mata R., Mathew T., Neumann T., Newsham I., Ngo D.N., Pu L.-L., Putman N.H., Rabouille C., Ramos O.M., Rhodes A.C., Robertson H.E., Robertson H.M., Ronshaugen M., Rozas J., Saada N., Sánchez-Gracia A., Scherer S.E., Schurko A.M., Siggens K.W., Simmons D., Stief A., Stolle E., Telford M.J., Tessmar-Raible Ninova M., Okwuonu G., Ongeri F., Palmer W.J., Patil S., Patraquim P., Pham C K., Thornton R., Maurijn van der Zee, Arndt von Haeseler, Williams J.M., Willis J.H., Wu Y., Zou X., Lawson D., Muzny D.M., Worley Kim C., Gibbs R.A., Akam M., Richards S. The first myriapod genome sequence reveals conservative arthropod gene content and genome organisation in the centipede *Strigamia maritima*. PLoS Biol. 2014;12(11):e1002005. DOI 10.1371/journal.pbio.1002005.

Cohen J.B., Liebermann D., Kedes L. *Tsp* transposons: a heterogeneous family of mobile sequences in the genome of the sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. Mol. Cel. Biol. 1985;5(10):2814-2825.

Cordaux R., Udit S., Batzer M.A., Feschotte C. Birth of a chimeric primate gene by capture of the transposase gene from a mobile element. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006;103(21):8101-8106. DOI 10.1073/pnas.0601161103.

Dehal P., Satou Y., Campbell R.K., Chapman J., Degnan B., De Tomaso A., Davidson B., Di Gregorio A., Gelpke M., Goodstein D.M., Harafuji N., Hastings K.E., Ho I., Hotta K., Huang W., Kawashima T., Lemaire P., Martinez D., Meinertzhagen I.A., Necula S., Nonaka M., Putnam N., Rash S., Saiga H., Satake M., Terry A., Yamada L., Wang H.G., Awazu S., Azumi K., Boore J., Branno M., Chin-Bow S., DeSantis R., Doyle S., Francino P., Keys D.N., Haga S., Hayashi H., Hino K., Imai K.S., Inaba K., Kano S., Kobayashi K., Kobayashi M., Lee B.I., Makabe K.W., Manohar C., Matassi G., Medina M., Mochizuki Y., Mount S., Morishita T., Miura S., Nakayama A., Nishizaka S., Nomoto H., Ohta F., Oishi K., Rigoutsos I., Sano M., Sasaki A., Sasakura Y., Shoguchi E., Shin-i T., Spagnuolo A., Stainier D., Suzuki M.M., Tassy O., Takatori N., Tokuoka M., Yagi K., Yoshizaki F., Wada S., Zhang C., Hyatt P.D., Larimer F., Detter C., Doggett N., Glavina T., Hawkins T., Richardson P., Lucas S., Kohara Y., Levine M., Satoh N., Rokhsar D.S. The draft genome of *Ciona intestinalis*: insights into chordate and vertebrate origins. Science. 2002;298(5601):2157-2167.

de Koning A.P., Gu W., Castoe T.A., Batzer M.A., Pollock D.D. Repetitive elements may comprise over two-thirds of the human genome. PLoS Genet. 2011;7(12):e1002384. DOI 10.1371/journal.pgen.1002384.

de la Vega E., Hall M.R., Wilson K.J., Reverter A., Woods R.G., Degnan B.M. Stress-induced gene expression profiling in the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. Physiol. Genomics. 2007;31(1):126-138. DOI 10.1152/physiolgenomics.00068.2007.

Dimitri P., Junakovic N. Revising the selfish DNA hypothesis: new evidence on accumulation of transposable elements in heterochromatin. Trends Genet. 1999;15(4):123-124. DOI http://dx.doi.org/10.1016/S0168-9525(99)01711-4.

Fedoroff N.V. Transposable elements, epigenetics, and genome evolution. Science. 2012;338:758-767. DOI 10.1126/science.338.6108.758.

Feschotte C., Zhang X., Wessler S.R. Miniature inverted-repeat transposable elements (MITEs) and their relationship with established DNA transposons, in Mobile DNA II. Washington (DC): Am. Soc. Microbiol. Press, 2002.

Fontdevila A. Hybrid genome evolution by transposition. Cytogenet. Genome Res. 2005;110(1-4):49-55. DOI 10.1159/000084937.

Fugmann S.D., Lee A.I., Shockett P.E., Villey I.J., Schatz D.G. The RAG proteins and V(D)J recombination: complexes, ends, and transposition. Annu. Rev. Immunol. 2000;18:495-527. DOI 10.1146/annurev.immunol.18.1.495.

Gaffney P.M., Pierce J.C., Mackinley A.G., Titchen D.A., Glenn W.K. *Pearl*, a novel family of putative transposable elements in bivalve mollusks. J. Mol. Evol. 2003;56(3):308-316. DOI 10.1007/s00239-002-2402-5.

Gentles A.J., Wakefield M.J., Kohany O., Gu W., Batzer M.A., Pollock D.D., Jurka J. Evolutionary dynamics of transposable elements in the short-tailed opossum *Monodelphis domestica*. Genome Res. 2007;17(7):992-1004. DOI 10.1101/gr.6070707.

Georgiev G.P. Mobile genetic elements in animal cells and their biological significance. Eur. J. Biochem. 1984;145(2):203-220. DOI 10.1111/j.1432-1033.1984.tb08541.x.

Geyer P.K., Spana C., Corces V.G. On the molecular mechanism of *gypsy*-induced mutations at the *yellow* locus of *Drosophila melanogaster*. EMBO J. 1986;5(10):2657-2662.

Gonzalez P., Lessios H.A. Evolution of sea urchin retroviral-like (*SURL*) elements: evidence from 40 Echinoid species. Mol. Biol. Evol. 1999;16(7):938-952. DOI mbev_16_705.938_952.

Goodier J.L., Kazazian H.H. Jr. Retrotransposons revisited: the restraint and rehabilitation of parasites. Cell. 2008;135(1):23-35. DOI 10.1016/j.cell.2008.09.022.

Goodwin T.J., Poulter R.T. The *DIRS1* group of retrotransposons. Mol. Biol. Evol. 2001;18(11):2067-2082. DOI mbev_18_1108.2067_2082.tp.

Guo B., Zou M., Gan X., He S. Genome size evolution in pufferfish: an insight from BAC clone-based *Diodon holocanthus* genome sequencing. BMC Genomics. 2010;11:396. DOI 10.1186/1471-2164-11-396.

Halaimia-Toumi N., Casse N., Demattei M.V., Renault S., Pradier E., Bigot Y., Laulier M. The GC-rich transposon *Bytmar1* from the deep-sea hydrothermal crab, *Bythograea thermydron*, may encode three transposase isoforms from a single ORF. J. Mol. Evol. 2004;59(6):747-760. DOI 10.1007/s00239-004-2665-0.

Handler A.M., Gomez S.P. *P* element excision in *Drosophila* is stimulated by gamma-irradiation in transient embryonic assays. Genet. Res. 1997;70(1):75-78.

Hizer S.E., Tamulis W.G., Robertson L.M., Garcia D.K. Evidence of multiple retrotransposons in two litopenaeid species. Anim. Genet. 2008;39(4):363-373. DOI 10.1111/j.1365-2052.2008.01739.x.

Hoffman-Liebermann B., Liebermann D., Kedes L.H., Cohen S.N. *TU* elements: a heterogeneous family of modularly structured eucaryotic transposons. Mol. Cell Biol. 1985;5(5):991-1001.

Huang C.R.L., Burns K.H., Boeke J.D. Active transposition in genomes. Annu. Rev. Genet. 2012;46:651-675. DOI 10.1146/annurev-genet-110711-155616.

Ivashchenko N.I., Grishaeva T.M. Modern ideas about the role of the different families of transposable elements in eukaryotic genomes. Uspekhi sovremennoy biologii = Progress of Modern Biology. 2009;129(2):115-123. (in Russian)

Junakovic N., di Franco C., Barsanti P., Palumbo G. Transpositions of *copia*-like elements can be induced by heat shock. J. Mol. Evol. 1986;24:89-93.

Jurka J. Repeats in genomic DNA: mining and meaning. Curr. Opin. Struct. Biol. 1998;8:333-337.

Jurka J. Conserved eukaryotic transposable elements and the evolution of gene regulation. Cell Mol. Life Sci. 2008;65:201-204. DOI 10.1007/s00018-007-7369-3.

Jurka J., Bao W., Kojima K.K. Families of transposable elements, population structure and the origin of species. Biol. Direct. 2011;6:44. DOI 10.1186/1745-6150-6-44.

Kapitonov V.V., Jurka J. Molecular paleontology of transposable elements in the *Drosophila melanogaster* genome. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003;100(11):6569-6574. DOI 10.1073/pnas.0732024100.

Kapitonov V.V., Jurka J. RAG1 core and V(D)J recombination signal sequences were derived from *Transib* transposons. PLoS Biol. 2005;3(6):e181. DOI 10.1371/journal.pbio.0030181.

Kapitonov V.V., Jurka J. *Chapaev* – a novel superfamily of DNA transposons. Repbase Reports. 2007;7(9):774-781. http://www.girinst.org/2007/vol7/issue9.

Kapitonov V.V., Jurka J. A universal classification of eukaryotic transposable elements implemented in Repbase. Nat. Rev. Genet. 2008;9(5):411-412. DOI 10.1038/nrg2165-c1.

Kenny N.J., Sin Y.W., Shen X., Zhe Q., Wang W., Chan T.F., Tobe S.S., Shimeld S.M., Chu K.H., Hui J.H. Genomic sequence and experimental tractability of a new decapod shrimp model, *Neocaridina*

denticulata. Mar Drugs. 2014;12(3):1419-1437. DOI 10.3390/md12031419.

Kidwell M.G. Transposable elements and the evolution of genome size in eukaryotes. Genetica. 2002;115(1):49-63.

Kidwell M.G., Lisch D.R. Perspective: transposable elements, parasitic DNA, and genome evolution. Evolution. 2001;55(1):1-24.

Kourtidis A., Drosopoulou E., Pantzartzi C.N., Chintiroglou C.C., Scouras Z.G. Three new satellite sequences and a mobile element found inside HSP70 introns of the mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis*). Genome. 2006;49(11):1451-1458. DOI 10.1139/g06-111.

Kovalenko L.V., Zakharenko L.P., Voloshina M.A., Karamysheva T.V., Rubtsov N.B., Zakharov I.K. Behavior of *hobo* and *P* transposons in *yellow2-717* unstable line of *Drosophila melanogaster* and its derivatives after crossing with a laboratory strain. Genetika = Genetics (Moscow). 2006;42(6):748-756. (in Russian)

Kumar A., Bennetzen J.L. Plant retrotransposons. Annu. Rev. Genet. 1999;33:479-532. DOI 10.1146/annurev.genet.33.1.479.

Lander E.S., Linton L.M., Birren B., Nusbaum C., Zody M.C., Baldwin J., Devon K., Dewar K., Doyle M., FitzHugh W., Funke R., Gage D., Harris K., Heaford A., Howland J., Kann L., Lehoczky J., LeVine R., McEwan P., McKernan K., Meldrim J., Mesirov J.P., Miranda C., Morris W., Naylor J., Raymond C., Rosetti M., Santos R., Sheridan A., Sougnez C., Stange-Thomann Y., Stojanovic N., Subramanian A., Wyman D., Rogers J., Sulston J., Ainscough R., Beck S., Bentley D., Burton J., Clee C., Carter N., Coulson A., Deadman R., Deloukas P., Dunham A., Dunham I., Durbin R., French L., Grafham D., Gregory S., Hubbard T., Humphray S., Hunt A., Jones M., Lloyd C., McMurray A., Matthews L., Mercer S., Milne S., Mullikin J.C., Mungall A., Plumb R., Ross M., Shownkeen R., Sims S., Waterston R.H., Wilson R.K., Hillier L.W., McPherson J.D., Marra M.A., Mardis E.R., Fulton L.A., Chinwalla A.T., Pepin K.H., Gish W.R., Chissoe S.L., Wendl M.C., Delehaunty K.D., Miner T.L., Delehaunty A., Kramer J.B., Cook L.L., Fulton R.S., Johnson D.L., Minx P.J., Clifton S.W., Hawkins T., Branscomb E., Predki P., Richardson P., Wenning S., Slezak T., Doggett N., Cheng J.F., Olsen A., Lucas S., Elkin C., Uberbacher E., Frazier M., Gibbs R.A., Muzny D.M., Scherer S.E., Bouck J.B., Sodergren E.J., Worley K.C., Rives C.M., Gorrell J.H., Metzker M.L., Naylor S.L., Kucherlapati R.S., Nelson D.L., Weinstock G.M., Sakaki Y., Fujiyama A., Hattori M., Yada T., Toyoda A., Itoh T., Kawagoe C., Watanabe H., Totoki Y., Taylor T., Weissenbach J., Heilig R., Saurin W., Artiguenave F., Brottier P., Bruls T., Pelletier E., Robert C., Wincker P., Smith D.R., Doucette-Stamm L., Rubenfield M., Weinstock K., Lee H.M., Dubois J., Rosenthal A., Platzer M., Nyakatura G., Taudien S., Rump A., Yang H., Yu J., Wang J., Huang G., Gu J., Hood L., Rowen L., Madan A., Qin S., Davis R.W., Federspiel N.A., Abola A.P., Proctor M.J., Myers R.M., Schmutz J., Dickson M., Grimwood J., Cox D.R., Olson M.V., Kaul R., Raymond C., Shimizu N., Kawasaki K., Minoshima S., Evans G.A., Athanasiou M., Schultz R., Roe B.A., Chen F., Pan H., Ramser J., Lehrach H., Reinhardt R., McCombie W.R., de la Bastide M., Dedhia N., Blöcker H., Hornischer K., Nordsiek G., Agarwala R., Aravind L., Bailey J.A., Bateman A., Batzoglou S., Birney E., Bork P., Brown D.G., Burge C.B., Cerutti L., Chen H.C., Church D., Clamp M., Copley R.R., Doerks T., Eddy S.R., Eichler E.E., Furey T.S., Galagan J., Gilbert J.G., Harmon C., Hayashizaki Y., Haussler D., Hermjakob H., Hokamp K., Jang W., Johnson L.S., Jones T.A., Kasif S., Kaspryzk A., Kennedy S., Kent W.J., Kitts P., Koonin E.V., Korf I., Kulp D., Lancet D., Lowe T.M., McLysaght A., Mikkelsen T., Moran J.V., Mulder N., Pollara V.J., Ponting C.P., Schuler G., Schultz J., Slater G., Smit A.F., Stupka E., Szustakowki J., Thierry-Mieg D., Thierry-Mieg J., Wagner L., Wallis J., Wheeler R., Williams A., Wolf Y.I., Wolfe K.H., Yang S.P., Yeh R.F., Collins F., Guyer M.S., Peterson J., Felsenfeld A., Wetterstrand K.A., Patrinos A., Morgan M.J., de Jong P., Catanese J.J., Osoegawa K., Shizuya H., Choi S., Chen Y.J., Szustakowki J. Initial International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature. 2001;409(6822):860-921. DOI F409_15d 860.921.

Liebermann D., Hoffman-Liebermann B., Weinthal J., Childs G., Maxson R., Mauron A., Cohen S.N., Kedes L. An unusual transposon with long terminal inverted repeats in the sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. Nature. 1983;306(5941):342-347.

Lim J.K., Simmons M.J. Gross chromosome rearrangements mediated by transposable elements in *Drosophila melanogaster*. Bioessays. 1994;16(4):269-275. DOI 10.1002/bies.950160410.

Llorens C., Muñoz-Pomer A., Bernad L., Botella H., Moya A. Network dynamics of eukaryotic LTR retroelements beyond phylogenetic trees. Biol. Direct. 2009;4:41. DOI 10.1186/1745-6150-4-41.

Luo Y.J., Takeuchi T., Koyanagi R., Yamada L., Kanda M., Khalturina M., Fujie M., Yamasaki S., Endo K., Satoh N. The Lingula genome provides insights into brachiopod evolution and the origin of phosphate biomineralization. Nat. Commun. 2015;6:8301. DOI 10.1038/ncomms9301.

McClintock B. Controlling elements and the gene. Cold Spring Harbor Sympos. Quant. Biol. 1956;21;197.

McInerney C.E., Allcock A.L., Johnson M.P., Bailie D.A., Prodöhl P.A. Comparative genomic analysis reveals speciesdependent complexities that explain difficulties with microsatellite marker development in molluscs. Heredity. 2011;106:78–87. DOI 10.1038/hdy.2010.36.

Mobile DNA. Eds. D.E. Berg, M.M. Howe. Washington D.C.: Am. Soc. Microbiol. Press, 1989.

Mobile DNA II. Eds. N. Craig, R. Craigie, M. Gellert, A. Lambowitz. Washington DC: Am. Soc. Microbiol. Press, 2002.

Mora C., Tittensor D.P., Adl S., Simpson A.G.B., Worm B. How many species are there on earth and in the ocean? PLoS Biol. 2011;9(8):e1001127. DOI 10.1371/journal.pbio.1001127.

Moroz L.L., Kocot K.M., Citarella M.R., Dosung S., Norekian T.P., Povolotskaya I.S., Grigorenko A.P., Dailey C., Berezikov E., Buckley K.M., Ptitsyn A., Reshetov D., Mukherjee K., Moroz T.P., Bobkova Y., Yu F., Kapitonov V.V., Jurka J., Bobkov Y.V., Swore J.J., Girardo D.O., Fodor A., Gusev F., Sanford R., Bruders R., Kittler E., Mills C.E., Rast J.P., Derelle R., Solovyev V.V., Kondrashov F.A., Swalla B.J., Sweedler J.V., Rogaev E.I., Halanych K.M., Kohn A.B. The ctenophore genome and the evolutionary origins of neural systems. Nature. 2014;510(7503):109-114. DOI 10.1038/nature13400.

Nossa C.W., Havlak P., Yue J.X., Lv J., Vincent K.Y., Brockmann H.J., Putnam N.H. Joint assembly and genetic mapping of the Atlantic horseshoe crab genome reveals ancient whole genome duplication. Gigascience. 2014;3:9. DOI 10.1186/2047-217X-3-9.

Nuzhdin S.V. Sure facts, speculations, and open questions about the evolution of transposable element copy number. Genetica. 1999;107(1-3):129-137.

Osborne P.W., Luke G.N., Holland P.W., Ferrier D.E. Identification and characterisation of five novel miniature inverted-repeat transposable elements (MITEs) in amphioxus (*Branchiostoma floridae*). Int. J. Biol. Sci. 2006;2(2):54-60. DOI 10.7150/ijbs.2.54.

Panchin Y., Moroz L.L. Molluscan mobile elements similar to the vertebrate recombination-activating genes. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2008;369(3):818-823. DOI 10.1016/j.bbrc.2008.02.097.

Pearce S.R., Pich U., Harrison G., Flavell A.J., Heslop-Harrison J.S., Schubert I., Kumar A. The *Ty1-copia* group retrotransposons of *Allium cepa* are distributed throughout the chromosomes but are enriched in the terminal heterochromatin. Chromosome Res. 1996;4(5):357-364.

Peifer M., Bender W. Sequences of the *gypsy* transposon of Drosophila necessary for its effects on adjacent genes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1988;85(24):9650-9654.

Permanyer J., Gonzalez-Duarte R., Albalat R. The non-LTR retrotransposons in *Ciona intestinalis*: new insights into the evolution of chordate genomes. Genome Biol. 2003;4(11):R73. DOI 10.1186/gb-2003-4-11-r73.

Peterson P.A. Historical overview of transposable element research. Plant Transposable Elements: Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology. Ed. Th. Peterson. 2013;1057:1-9. DOI 10.1007/978-1-62703-568-2_1.

Piednoël M., Bonnivard E. DIRS1-like retrotransposons are widely distributed among Decapoda and are particularly present in hydrothermal vent organisms. BMC Evol. Biol. 2009;9:86. DOI 10.1186/1471-2148-9-86.

Piednoël M., Donnart T., Esnault C., Graća P., Higuet D., Bonnivard E. LTR-retrotransposons in *R. exoculata* and other crustaceans: the outstanding success of *GalEa*-like *copia* elements. PLoS ONE. 2013; 8(3):e57675. DOI 10.1371/journal.pone.0057675.

Putnam N.H., Butts T., Ferrier D.E., Furlong R.F., Hellsten U., Kawashima T., Robinson-Rechavi M., Shoguchi E., Terry A., Yu J.K., Benito-Gutiérrez E.L., Dubchak I., Garcia-Fernàndez J., Gibson-Brown J.J., Grigoriev I.V., Horton A.C., de Jong P.J., Jurka J., Kapitonov V.V., Kohara Y., Kuroki Y., Lindquist E., Lucas S., Osoegawa K., Pennacchio L.A., Salamov A.A., Satou Y., Sauka-Spengler T., Schmutz J., Shin-I T., Toyoda A., Bronner-Fraser M., Fujiyama A., Holland L.Z., Holland P.W., Satoh N., Rokhsar D.S. The amphioxus genome and the evolution of the chordate karyotype. Nature. 2008;453(7198):1064-1071. DOI 10.1038/nature06967.

Putnam N.H., Srivastava M., Hellsten U., Dirks B., Chapman J., Salamov A., Terry A., Shapiro H., Lindquist E., Kapitonov V.V., Jurka J., Genikhovich G., Grigoriev I.V., Lucas S.M., Steele R.E., Finnerty J.R., Technau U., Martindale M.Q., Rokhsar D.S. Sea anemone genome reveals ancestral eumetazoan gene repertoire and genomic organization. Science. 2007;317(5834):86-94. DOI 10.1126/science.1139158.

Ratner V.A., Vasil'eva L.A. Induction of transposition and excision of mobile genetic elements by isogenization in Drosophila. Genetika = Genetics (Moscow). 1996;32(7):933-944. (in Russian)

Rebollo R., Romanish M.T., Mager D.L. Transposable elements: an abundant and natural source of regulatory sequences for host genes. Annu Rev. Genet. 2012;46:21-42. DOI 10.1146/annurev-genet-110711-155621.

Robertson H.M. Multiple mariner transposons in flatworms and hydras are related to those of insects. J. Hered. 1997;88:195-201.

Robertson H.M., Zumpano K.L. Molecular evolution of an ancient mariner transposon, Hsmar1, in the human genome. Gene. 1997;205: 203-217.

Ryan J.F., Pang K., Schnitzler C.E., Nguyen A.D., Moreland R.T., Simmons D.K., Koch B.J., Francis W.R., Havlak P. NISC Comparative Sequencing Program, Smith S.A., Putnam N.H., Haddock S.H., Dunn C.W., Wolfsberg T.G., Mullikin J.C., Martindale M.Q., Baxevanis A.D. The genome of the ctenophore *Mnemiopsis leidyi* and its implications for cell type evolution. Science. 2013;342(6164): 1242592. DOI 10.1126/science.1242592.

Sakaew W., Pratoomthai B., Pongtippatee P., Flegel T.W., Withyachumnarnkul B. Discovery and partial characterization of a non-LTR retrotransposon that may be associated with abdominal segment deformity disease (ASDD) in the whiteleg shrimp *Penaeus* (*Litopenaeus*) *vannamei*. BMC Vet. Res. 2013;9:189. DOI 10.1186/1746-6148-9-189.

Sakano H., Huppi K., Heinrich G., Tonegawa S. Sequences at the somatic recombination sites of immunoglobulin light-chain genes. Nature. 1979;280:288-294.

SanMiguel P., Tikhonov A., Jin Y.K., Motchoulskaia N., Zakharov D., Melake-Berhan A., Springer P.S., Edwards K.J., Lee M., Avramova Z., Bennetzen J.L. Nested retrotransposons in the intergenic regions of the maize genome. Science. 1996;274(5288):765-768. DOI 10.1126/science.274.5288.765.

Seo H.C., Kube M., Edvardsen R.B., Jensen M.F., Beck A., Spriet E., Gorsky G., Thompson E.M., Lehrach H., Reinhardt R., Chourrout D. Miniature genome in the marine chordate *Oikopleura dioica*. Science. 2001;294(5551):2506.

Sergeeva E.M., Salina E.A. Transposable elements and plant genome evolution. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2011;15(2):382-398. (in Russian)

Shinzato C., Shoguchi E., Kawashima T., Hamada M., Hisata K., Tanaka M., Fujie M., Fujiwara M., Koyanagi R., Ikuta T., Fujiyama A., Miller D.J., Satoh N. Using the *Acropora digitifera* genome to understand coral responses to environmental change. Nature. 2011; 476(7360):320-323. DOI 10.1038/nature10249.

Simakov O., Kawashima T., Marlétaz F., Jenkins J., Koyanagi R., Mitros T., Hisata K., Bredeson J., Shoguchi E., Gyoja F., Yue J.X., Chen Y.C., Freeman R.M. Jr., Sasaki A., Hikosaka-Katayama T., Sato A., Fujie M., Baughman K.W., Levine J., Gonzalez P., Cameron C., Fritzenwanker J.H., Pani A.M., Goto H., Kanda M., Arakaki N., Yamasaki S., Qu J., Cree A., Ding Y., Dinh H.H., Dugan S., Holder M., Jhangiani S.N., Kovar C.L., Lee S.L., Lewis L.R., Morton D., Nazareth L.V., Okwuonu G., Santibanez J., Chen R., Richards S., Muzny D.M., Gillis A., Peshkin L., Wu M., Humphreys T., Su Y.H., Putnam N.H., Schmutz J., Fujiyama A., Yu J.K., Tagawa K., Worley K.C., Gibbs R.A., Kirschner M.W., Lowe C.J., Satoh N., Rokhsar D.S., Gerhart J. Hemichordate genomes and deuterostome origins. Nature. 2015;527(7579):459-465. DOI 10.1038/nature16150.

Simakov O., Marletaz F., Cho S.J., Edsinger-Gonzales E., Havlak P., Hellsten U., Kuo D.H., Larsson T., Lv J., Arendt D., Savage R., Osoegawa K., de Jong P., Grimwood J., Chapman J.A., Shapiro H., Aerts A., Otillar R.P., Terry A.Y., Boore J.L., Grigoriev I.V., Lindberg D.R., Seaver E.C., Weisblat D.A., Putnam N.H., Rokhsar D.S. Insights into bilaterian evolution from three spiralian genomes. Nature. 2013;493(7433):526-531. DOI 10.1038/nature11696.

Simmen M.W., Bird A. Sequence analysis of transposable elements in the sea squirt, *Ciona intestinalis*. Mol. Biol. Evol. 2000;17(11):1685-1694. DOI mbev_17_1102.1685_1694.tp.

Small K.S., Brudno M., Hill M.M., Sidow A. A haplome alignment and reference sequence of the highly polymorphic *Ciona savignyi* genome. Genome Biol. 2007;8(3):R41.

Sodergren E., Weinstock G.M., Davidson E.H., Cameron R.A., Gibbs R.A., Angerer R.C., Angerer L.M., Arnone M.I., Burgess D.R., Burke R.D., Coffman J.A., Dean M., Elphick M.R., Ettensohn C.A., Foltz K.R., Hamdoun A., Hynes R.O., Klein W.H., Marzluff W., McClay D.R., Morris R.L., Mushegian A., Rast J.P., Smith L.C., Thorndyke M.C., Vacquier V.D., Wessel G.M., Wray G., Zhang L., Elsik C.G., Ermolaeva O., Hlavina W., Hofmann G., Kitts P., Landrum M.J., Mackey A.J., Maglott D., Panopoulou G., Poustka A.J., Pruitt K., Sapojnikov V., Song X., Souvorov A., Solovyev V., Wei Z., Whittaker C.A., Worley K., Durbin K.J., Shen Y., Fedrigo O., Garfield D., Haygood R., Primus A., Satija R., Severson T., Gonzalez-Garay M.L., Jackson A.R., Milosavljevic A., Tong M., Killian C.E., Livingston B.T., Wilt F.H., Adams N., Bellé R., Carbonneau S., Cheung R., Cormier P., Cosson B., Croce J., Fernandez-Guerra A., Geneviève A.M., Goel M., Kelkar H., Morales J., Mulner-Lorillon O., Robertson A.J., Goldstone J.V., Cole B., Epel D., Gold B., Hahn M.E., Howard-Ashby M., Scally M., Stegeman J.J., Allgood E.L., Cool J., Judkins K.M., McCafferty S.S., Musante A.M., Obar R.A., Rawson A.P., Rossetti B.J., Gibbons I.R., Hoffman M.P., Leone A., Istrail S., Materna S.C., Samanta M.P., Stolc V., Tongprasit W., Tu Q., Bergeron K.F., Brandhorst B.P., Whittle J., Berney K., Bottjer D.J., Calestani C., Peterson K., Chow E., Yuan Q.A., Elhaik E., Graur D., Reese J.T., Bosdet I., Heesun S., Marra M.A., Schein J., Anderson M.K., Brockton V., Buckley K.M., Cohen A.H., Fugmann S.D., Hibino T., Loza-Coll M., Majeske A.J., Messier C., Nair S.V., Pancer Z., Terwilliger D.P., Agca C., Arboleda E., Chen N., Churcher A.M., Hallböök F., Humphrey G.W., Idris M.M., Kiyama T., Liang S., Mellott D., Mu X., Murray G., Olinski R.P., Raible F., Rowe M., Taylor J.S., Tessmar-Raible K., Wang D., Wilson K.H., Yaguchi S., Gaasterland T., Galindo B.E., Gunaratne H.J., Juliano C., Kinukawa M., Moy G.W., Neill A.T., Nomura M., Raisch M., Reade A., Roux M.M., Song J.L., Su Y.H., Townley I.K., Voronina E., Wong J.L., Amore G., Branno M., Brown E.R., Cavalieri V., Duboc V., Duloquin L., Flytzanis C., Gache C., Lapraz F., Lepage T., Locascio A., Martinez P., Matassi G., Matranga V., Range R., Rizzo F., Röttinger E., Beane W., Bradham C., Byrum C.,

Glenn T., Hussain S., Manning G., Miranda E., Thomason R., Walton K., Wikramanayke A., Wu S.Y., Xu R., Brown C.T., Chen L., Gray R.F., Lee P.Y., Nam J., Oliveri P., Smith J., Muzny D., Bell S., Chacko J., Cree A., Curry S., Davis C., Dinh H., Dugan-Rocha S., Fowler J., Gill R., Hamilton C., Hernandez J., Hines S., Hume J., Jackson L., Jolivet A., Kovar C., Lee S., Lewis L., Miner G., Morgan M., Nazareth L.V., Okwuonu G., Parker D., Pu L.L., Thorn R., Wright R. The genome of the sea urchin Strongylocentrotus purpuratus. Science. 2006;314(5801):941-952.

Sormacheva I.D., Blinov A.G. LTR retrotransposons in plants. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2011;15(2):351-381. (in Russian)

Specchia V., Piacentini L., Tritto P., Fanti L., D'Alessandro R., Palumbo G., Pimpinelli S., Bozzetti M.P. Hsp90 prevents phenotypic variation by suppressing the mutagenic activity of transposons. Nature. 2010;463(7281):662-665.

Springer M.S., Davidson E.H., Britten R.J. Retroviral-like element in a marine invertebrate. Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1991;88:8401-8404.

Srivastava M., Begovic E., Chapman J., Putnam N.H., Hellsten U., Kawashima T., Kuo A., Mitros T., Salamov A., Carpenter M.L., Signorovitch A.Y., Moreno M.A., Kamm K., Grimwood J., Schmutz J., Shapiro H., Grigoriev I.V., Buss L.W., Schierwater B., Dellaporta S.L., Rokhsar D.S. The Trichoplax genome and the nature of placozoans. Nature. 2008;454(7207):955-960. DOI 10.1038/nature07191.

Srivastava M., Simakov O., Chapman J., Fahey B., Gauthier M.E., Mitros T., Richards G.S., Conaco C., Dacre M., Hellsten U., Larroux C., Putnam N.H., Stanke M., Adamska M., Darling A., Degnan S.M., Oakley T.H., Plachetzki D.C., Zhai Y., Adamski M., Calcino A., Cummins S.F., Goodstein D.M., Harris C., Jackson D.J., Leys S.P., Shu S., Woodcroft B.J., Vervoort M., Kosik K.S., Manning G., Degnan B.M., Rokhsar D.S. The *Amphimedon queenslandica* genome and the evolution of animal complexity. Nature. 2010;466(7307):720-726. DOI 10.1038/nature09201.

Syvanen M. Evolutionary implications of horizontal gene transfer. Annu. Rev. Genet. 2012;46:341-358. DOI 10.1146/annurev-genet-110711-155529.

Terrat Y., Bonnivard E., Higuet D. GalEa retrotransposons from galatheid squat lobsters (Decapoda, Anomura) define a new clade of *Ty1/copia*-like elements restricted to aquatic species. Mol. Gen. Genom. 2008;279:63-73. DOI 10.1007/s00438-007-0295-0.

Thompson C.B. New insights into V(D)J recombination and its role in the evolution of the immune system. Immunity. 1995;3:531-539.

Vasil'eva L.A., Ratner V.A., Antonenko O.V., Lopukhova E.D., Bubenshchikova E.V. Induction of MGE 412 transposition in an isogenic strain of *Drosophila melanogaster* by different doses of ethanol fumes. Genetika = Genetics (Moscow). 2003;39(5):717-720. (in Russian)

Vieira C., Nardon C., Arpin C., Lepetit D., Biémont C. Evolution of genome size in Drosophila. Is the invader's genome being invaded by transposable elements? Mol. Biol. Evol. 2002;19(7):1154-1161. DOI mbev_19_705.1154_1161.tp.`

Volff J.N., Lehrach H., Reinhardt R., Chourrout D. Retroelement dynamics and a novel type of chordate retrovirus-like element in the miniature genome of the tunicate *Oikopleura dioica*. Mol. Biol. Evol. 2004;21(11):2022-2033. DOI 10.1093/molbev/msh207.

Wang S., Zhang L., Meyer E., Matz M.V. Characterization of a group of *MITEs* with unusual features from two coral genomes. PLoS ONE. 2010;5(5):e10700. DOI 10.1371/journal.pone.0010700.

Waterston R.H., Lindblad-Toh K., Birney E., Rogers J., Abril J.F., Agarwal P., Agarwala R., Ainscough R., Alexandersson M., An P., Antonarakis S.E., Attwood J., Baertsch R., Bailey J., Barlow K., Beck S., Berry E., Birren B., Bloom T., Bork P., Botcherby M., Bray N., Brent M.R., Brown D.G., Brown S.D., Bult C., Burton J., Butler J., Campbell R.D., Carninci P., Cawley S., Chiaromonte F., Chinwalla A.T., Church D.M., Clamp M., Clee C., Collins F.S., Cook L.L., Copley R.R., Coulson A., Couronne O., Cuff J., Curwen V., Cutts T., Daly M., David R., Davies J., Delehaunty K.D., Deri J., Dermitzakis E.T., Dewey C., Dickens N.J., Diekhans M., Dodge S., Dubchak I., Dunn D.M., Eddy S.R., Elnitski L., Emes R.D., Eswara P., Eyras E., Felsenfeld A., Fewell G.A., Flicek P., Foley K., Frankel W.N., Fulton L.A., Fulton R.S., Furey T.S., Gage D., Gibbs R.A., Glusman G., Gnerre S., Goldman N., Goodstadt L., Grafham D., Graves T.A., Green E.D., Gregory S., Guigó R., Guyer M., Hardison R.C., Haussler D., Hayashizaki Y., Hillier L.W., Hinrichs A., Hlavina W., Holzer T., Hsu F., Hua A., Hubbard T., Hunt A., Jackson I., Jaffe D.B., Johnson L.S., Jones M., Jones T.A., Joy A., Kamal M., Karlsson E.K., Karolchik D., Kasprzyk A., Kawai J., Keibler E., Kells C., Kent W.J., Kirby A., Kolbe D.L., Korf I., Kucherlapati R.S., Kulbokas E.J., Kulp D., Landers T., Leger J.P., Leonard S., Letunic I., Levine R., Li J., Li M., Lloyd C., Lucas S., Ma B., Maglott D.R., Mardis E.R., Matthews L., Mauceli E., Mayer J.H., McCarthy M., McCombie W.R., McLaren S., McLay K., McPherson J.D., Meldrim J., Meredith B., Mesirov J.P., Miller W., Miner T.L., Mongin E., Montgomery K.T., Morgan M., Mott R., Mullikin J.C., Muzny D.M., Nash W.E., Nelson J.O., Nhan M.N., Nicol R., Ning Z., Nusbaum C., O'Connor M.J., Okazaki Y., Oliver K., Overton-Larty E., Pachter L., Parra G., Pepin K.H., Peterson J., Pevzner P., Plumb R., Pohl C.S., Poliakov A., Ponce T.C., Ponting C.P., Potter S., Quail M., Reymond A., Roe B.A., Roskin K.M., Rubin E.M., Rust A.G., Santos R., Sapojnikov V., Schultz B., Schultz J., Schwartz M.S., Schwartz S., Scott C., Seaman S., Searle S., Sharpe T., Sheridan A., Shownkeen R., Sims S., Singer J.B., Slater G., Smit A., Smith D.R., Spencer B., Stabenau A., Stange-Thomann N., Sugnet C., Suyama M., Tesler G., Thompson J., Torrents D., Trevaskis E., Tromp J., Ucla C., Ureta-Vidal A., Vinson J.P., Von Niederhausern A.C., Wade C.M., Wall M., Weber R.J., Weiss R.B., Wendl M.C., West A.P., Wetterstrand K., Wheeler R., Whelan S., Wierzbowski J., Willey D., Williams S., Wilson R.K., Winter E., Worley K.C., Wyman D., Yang S., Yang S.P., Zdobnov E.M., Zody M.C., Lander E.S. Mouse Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. Nature. 2002;420:520-562. DOI 10.1038/nature01262.

Wicker T., Sabot F., Hua-van A., Bennetzen J.L., Capy P., Chalhoub B., Flavell A., Leroy P., Morgante M., Panaud O., Paux E., SanMiguel P., Schulman A.H. A unified classification system for eukaryotic transposable elements. Nat. Rev. Genet. 2007;8:973-982. DOI 10.1038/nrg2165.

Yurchenko N.N., Kovalenko L.V., Zakharov I.K. Transposable elements: instability of genes and genomes. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2011;15(2):261-270. (in Russian)

Zakharenko L.P., Kovalenko L.V., Perepelkina M.P., Zakharov I.K. The effect of gamma-radiation on induction of the *hobo* element transposition in *Drosophila melanogaster*. Genetika = Genetics (Moscow). 2006;42(6):763-767. (in Russian)

Zhang G., Fang X., Guo X., Li L., Luo R., Xu F., Yang P., Zhang L., Wang X., Qi H., Xiong Z., Que H., Xie Y., Holland P.W., Paps J., Zhu Y., Wu F., Chen Y., Wang J., Peng C., Meng J., Yang L., Liu J., Wen B., Zhang N., Huang Z., Zhu Q., Feng Y., Mount A., Hedgecock D., Xu Z., Liu Y., Domazet-Lošo T., Du Y., Sun X., Zhang S., Liu B., Cheng P., Jiang X., Li J., Fan D., Wang W., Fu W., Wang T., Wang B., Zhang J., Peng Z., Li Y., Li N., Wang J., Chen M., He Y., Tan F., Song X., Zheng Q., Huang R., Yang H., Du X., Chen L., Yang M., Gaffney P.M., Wang S., Luo L., She Z., Ming Y., Huang W., Zhang S., Huang B., Zhang Y., Qu T., Ni P., Miao G., Wang J., Wang Q., Steinberg C.E., Wang H., Li N., Qian L., Zhang G., Li Y., Yang H., Liu X., Wang J., Yin Y., Wang J. The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation. Nature. 2012;490(7418):49-54. DOI 10.1038/nature11413.

Прием статей через электронную редакцию на сайте http://vavilov.elpub.ru/index.php/jour
Предварительно нужно зарегистрироваться как автору, затем в правом верхнем углу страницы выбрать «Отправить рукопись». После завершения загрузки материалов обязательно выбрать опцию «Отправить письмо», в этом случае редакция автоматически будет уведомлена о получении новой рукописи.

«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".

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

«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, Российский индекс научного цитирования, ВИНИТИ, базы данных Ebsco, DOAJ, Urlich's Periodicals Directory, Google Scholar, Russian Science Citation Index на платформе Web of Science.

Открытый доступ к полным текстам:
на сайте ИЦиГ СО РАН – bionet.nsc.ru/vogis/
платформе Elpub – vavilov.elpub.ru/index.php/jour
платформе Научной электронной библиотеки – elibrary.ru/title_about.asp?id=32440

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

При перепечатке материалов ссылка на журнал обязательна.

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

Проспект Академика Лаврентьева, 10, Новосибирск, 630090.
Секретарь по организационным вопросам С.В. Зубова. Тел.: (383)3634977.
Издание подготовлено информационно-издательским отделом ИЦиГ СО РАН. Тел.: (383)3634963*5218.
Начальник отдела: Т.Ф. Чалкова. Редактор: И.Ю. Ануфриева. Дизайн: А.В. Харкевич.
Компьютерная графика и верстка: Т.Б. Коняхина, О.Н. Савватеева.

Подписано в печать 15.03.2017. Формат 60 × 84 $^{1}/_{8}$. Усл. печ. л. 16,04. Уч.-изд. л. 17,4.
Тираж 200 экз. Заказ № 68.

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