

Режимы тестирования *in vitro* яровой мягкой пшеницы и ячменя (P) и связь их со скоростью развития (v)

| Темп развития | v, сут ⁻¹ | v ² , сут ⁻² | P | P/v ² |
|------------------------------|----------------------|------------------------------------|------|------------------|
| Яровая мягкая пшеница | | | | |
| Ускоренный | 0,200 | 0,040 | 0,90 | 22,5 |
| Средний | 0,180 | 0,032 | 0,75 | 23,4 |
| Замедленный | 0,164 | 0,027 | 0,60 | 22,2 |
| Ячмень | | | | |
| Ускоренный | 0,290 | 0,084 | 3,00 | 35,7 |
| Средний | 0,237 | 0,056 | 2,00 | 35,7 |

где s – число этапов органогенеза в периоде всходы – цветение; t – продолжительность этого периода, сут. Данный период взят потому, что у злаковых культур в конце девятого этапа органогенеза, когда осуществляется зиготогенез, развитие материнского организма практически завершается [5].

Поскольку согласно опытным данным, $P/v^2 = K$, то $P = Kv^2$, то есть чтобы при оценке сортов *in vitro*

получить сопоставимые результаты, отражающие устойчивость форм в процессе развития, режимы тестирования для них по жесткости должны быть пропорциональны квадратам скоростей развития. При этом константы (K) отражают межвидовые различия по устойчивости к неблагоприятным абиотическим факторам. Связь, выраженная формулой $P = Kv^2$, объясняется тем, что в зависимости от темпа развития устойчивость форм изменяется обратно пропорционально квадрату скорости развития [2].

Литература. 1. *Способ оценки растений in vitro к абиотическим факторам внешней среды*: Пат.2146865. Россия, М А01Н4/00, А01Н1/04 / Россеев В.М.; Сиб.НПО "Колос". - № 92002021/13; Заявл. 26.10.92; Опубл. 27.03.00; Бюл. № 9. 2. *Россеев В.М.* Тестирование *in vitro* разных форм яровой мягкой пшеницы на устойчивость к неблагоприятным абиотическим факторам среды // Доклады Россельхозакадемии. – 2007. – № 5. – С. 3-5. 3. *Gamborg O.L., Eveleigh D.E.* Culture methods and detection of gluconases in cultures of wheat and barley // Can. J. Biochem. – 1968. – V. 46. – № 5. 4. *Веселова Т.В., Веселовский В.А., Чернавский Д.С.* Стресс у растений (Биофизический подход). -М.: Изд-во Моск. ун-та, 1993. 5. *Куперман Ф.М.* Морфофизиология растений. -М.: Высшая школа, 1977.

Поступила в редакцию 31.03.09

Rosseev V.M., Belan I.A., Rosseeva L.P. Test in vitro of spring soft wheat and barley for resistance to unfavorable abiogenic environmental factors

The results of data analysis of testing in vitro of spring soft wheat and barley were presented. It was established, that comparative evaluation in vitro of cultivars for resistance to unfavorable abiogenic environmental factors should be made with taking into account the relationship between resistance and rate of development. At that time the differences between species are appeared as defined constants.

УДК 633.174:575.22:57.065

ИДЕНТИФИКАЦИЯ МИРОВЫХ ЦЕНТРОВ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ЗЕРНОВОГО СОРГО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДНК-МАРКЕРОВ РИСА*

П.П.Стрельченко¹, кандидат биологических наук, **О.И.Романова¹**, кандидат сельскохозяйственных наук, **А.В.Конарев¹**, доктор биологических наук, **К.Окуно²**, доктор
(Представлено членом-корреспондентом Россельхозакадемии **Б.Н.Малиновским**)

¹ *Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н.И.Вавилова, 190000, Санкт-Петербург*
² *University of Tsukuba, Ibaraki, Japan*
E-mail: p.strelchenko@vir.nw.ru

Для сравнительного изучения образцов зернового сорго использовали STS- и InDel-маркеры, разработанные на основе последовательностей ДНК определенных генов риса. Выявлены основные центры генетического разнообразия сорго: два – в Африке, третий – в регионах Центральной, Восточной и Южной Азии.

Ключевые слова: сорго, генетические ресурсы, ДНК-маркеры

Key words: sorghum, genetic resources, DNA-markers

Процесс формирования зерновых злаковых культур при их распространении по регионам с различными почвенно-климатическими условиями проходил под действием искусственного и естественного отбора и обусловил большое эколого-географическое и сортовое разнообразие, которое до сих пор трудно

поддается классификации. В то же время информация о генетическом разнообразии культурных растений имеет первостепенное значение как для совершенствования стратегии их эффективного сохранения *ex situ* и целенаправленного расширения генетической изменчивости в коллекциях, так и для определения путей использования коллекций в селекции. В мо-

* Работа выполнена при финансовой поддержке Японского общества развития науки (Japan Society for Promotion of Science, JSPS, www.jsps.go.jp).

лекулярной генетике разработан ряд маркерных систем, позволяющих с высокой точностью выявлять полиморфизм растений по структуре их ДНК (PDRF-, RAPD-, AFLP-, SSR- и SNP-маркеры). Недавно полученная информация о полной структуре генома риса [1] открывает широкие возможности для сравнительной геномики злаков с учетом высокого уровня синтении между их геномами [2], а также большого сходства по первичным последовательностям генов даже таких давно дивергировавших видов, как рис и сорго [3]. На основе этих данных мы предположили, что ДНК-маркеры риса могут быть эффективны для исследования генетического разнообразия других видов злаков и попытались изучить возможности их применения в целях разработки внутривидовой генетической классификации сорго *Sorghum bicolor* (L.) Moench.

Методика. Из 48 изученных образцов сорго 17 сортов происходили из разных стран Африки, 13, 11 и 7 – из стран соответственно Центральной, Южной и Восточной Азии. Выделение ДНК (каждый образец был представлен одним растением) и полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили по методике, описанной ранее [4].

Использовали набор из 166 маркеров, предоставленный доктором Ш.Фукуокой из Государственного института агробиологических наук (NIAS, Цукуба, Япония). Он включал 128 STS-маркеров, разработанных на основе последовательностей кДНК риса и 38 InDel-маркеров, полученных путем идентификации инсерций/делетий при сравнительном анализе геномных последовательностей сортов риса. В экспериментальном плане каждый маркер представляет собой компонент элетрофоретического спектра фрагментов ДНК, полученных при амплификации с двумя олигонуклеотидными праймерами, которые идентичны определенным уникальным последовательностям генома риса. Как правило, эти праймеры обеспечивают амплификацию с ДНК риса участка идентифицированного гена размером 120-700 п.н., который различается по длине у разных сортов.

Продукты ПЦР с ДНК сорго разделяли в пластинах 3 %-ного агарозного геля, окрашивали бромистым этидием и документировали в проходящем ультрафиолетовом свете. Близкие по размеру ПЦР-продукты анализировали капиллярным электрофорезом в системе HDA-GT12 (eGene Inc.) в соответствии с рекомендациями производителя. Наличие или отсутствие амплифицированных фрагментов ДНК при составлении бинарной матрицы исходных данных кодировали цифрами 1 или 0. На основе этой матрицы данных строили матрицу коэффициентов сходства Simple Matching, которую использовали для кластеризации сортов методом UPGMA и анализа методом главных осей. Все расчеты и графические построения проводили с использованием пакета статистических программ NTSYS 2.0.

Результаты и обсуждение. Каждую из 166 пар праймеров использовали для ПЦР с ДНК генотипов шести сортов сорго, происходящих из различных регионов Азии и Африки. В результате анализа отобрали 14 STS- и 10 InDel-маркеров, которые выявляли различия между генотипами. Эти маркеры четко выявляли единичные локусы, локализованные в 10 из 12 хромосом генома риса (за исключением хромосом 6 и 10). Все они идентифицированы в геноме риса с использованием базы данных (RAP-DB, <http://rapdb.dna.affrc.go.jp/>) по последовательностям как прямого,

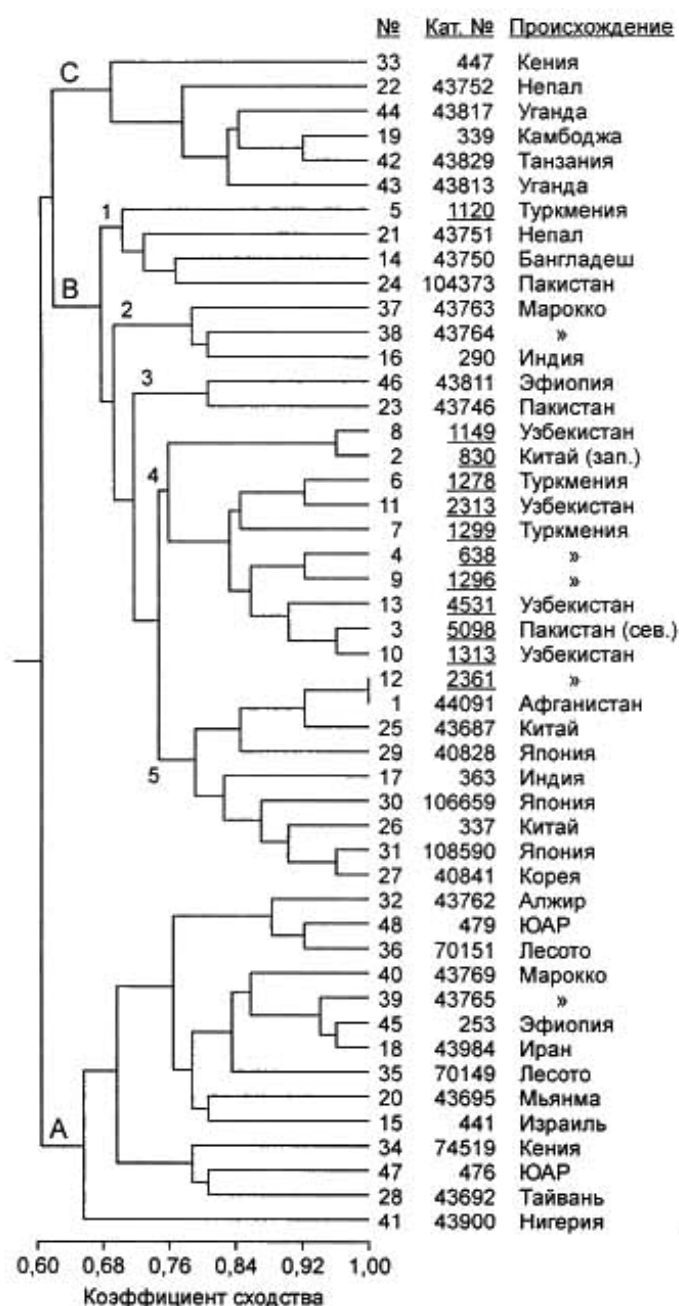


Рис. 1. Распределение 48 образцов сорго на дендрограмме, построенной по результатам их анализа с использованием STS- и InDel-маркеров риса: Кат. № – номера по каталогу Генбанка NIAS (http://www.gene.affrc.go.jp/databases-plant_search_en.php), подчеркнуты номера по каталогу коллекции ВИР (<http://www.vir.nw.ru/data/dbf.htm>).

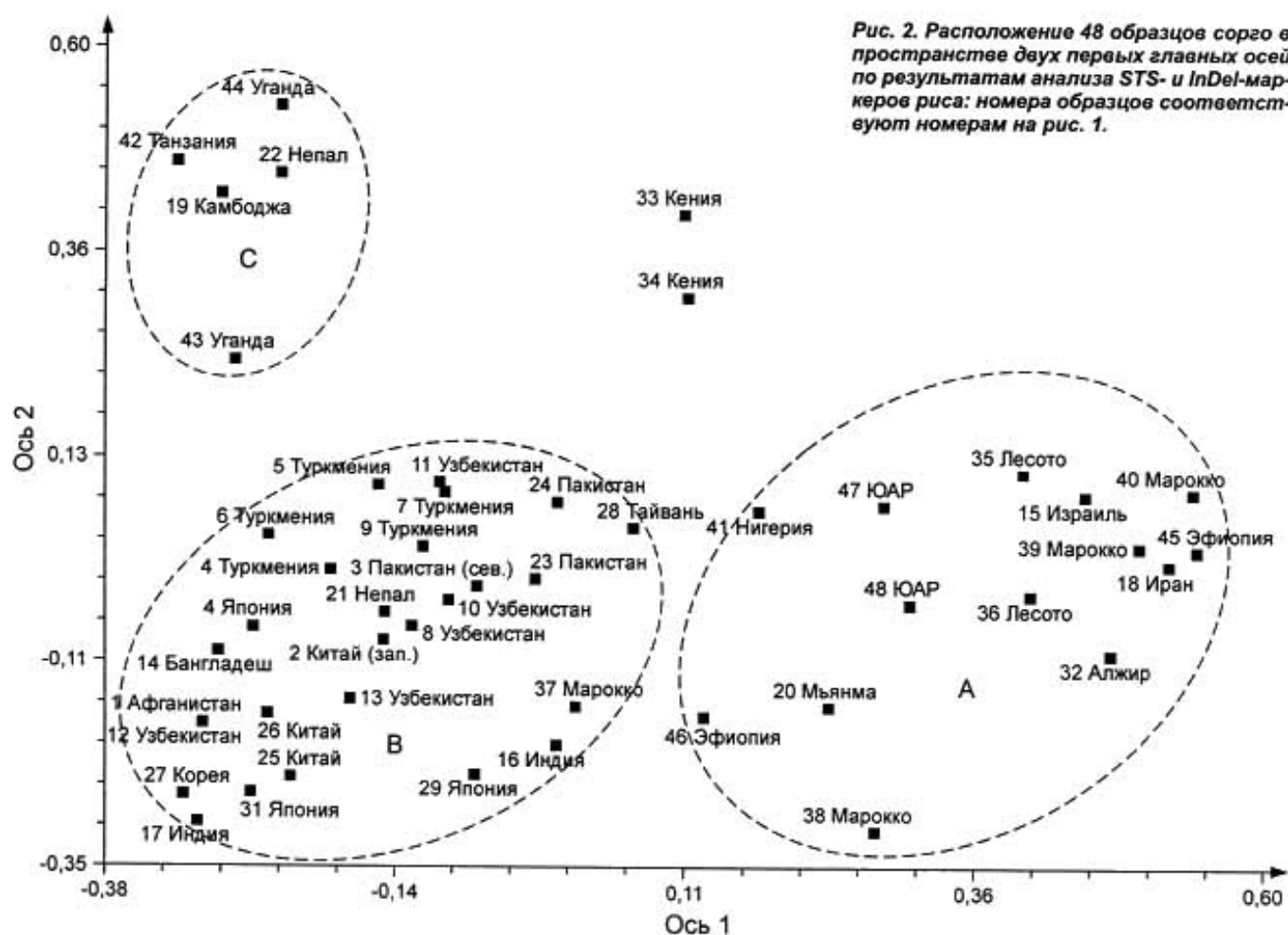


Рис. 2. Расположение 48 образцов сорго в пространстве двух первых главных осей по результатам анализа STS- и InDel-маркеров риса: номера образцов соответствуют номерам на рис. 1.

так и обратного праймеров. Из 24 отобранных пар праймеров 20 пар обеспечивали синтез участков 27 генов белков с различной категорией их идентификации. Большинство белков входит в состав ключевых ферментативных комплексов клеточного метаболизма и имеет участки связывания АТФ, ФАД, НАД, цинка и кальция. Вероятно, эти комплексы играют важную роль в адаптации и внутривидовой дифференциации растений. Интересно, что среди идентифицированных генов были также гены стресс-индуцибельных белков: теплового шока и индуцируемых патогеном.

В анализе генотипов 48 сортов сорго различного географического происхождения со всеми 24 парами праймеров учитывали 32 фрагмента ДНК (компонента электрофоретического спектра). Для 20 маркеров выявлены однокомпонентные спектры, поэтому можно предположить, что изученные локусы генома сорго ортологичны соответствующим локусам генома риса. Распределение 48 образцов (генотипов) сорго на фенограмме, построенной по результатам кластерного анализа (рис. 1) почти полностью соответствовало их расположению в пространстве двух первых главных осей (рис. 2). В обоих случаях все образцы сформировали три основные группы. Кластер А, как и группа А на рис. 2, содержали образцы преимущественно из разных регионов Африки. Кластер В был самым

крупным и имел сложную структуру: объединял пять подкластеров. Большинство образцов подкластеров 1-3 происходило из стран Южной Азии (Бангладеш, Индии, Непала и Пакистана). Подкластер 4 содержал образцы только из региона Центральной Азии (Западного Китая, Северного Пакистана, Туркмении и Узбекистана), подкластер 5 – образцы сорго, происходящие главным образом из Восточной Азии (Китая, Кореи и Японии). В целом по составу образцов кластер В соответствовал группе В на рис. 2. При этом образцы как из Центральной, так и Восточной Азии имели тенденцию к совместному расположению. Кластер С включал образцы в основном из Восточной Африки (Кении, Танзании и Уганды) и соответствовал группе С, хотя два образца из Кении занимали промежуточное положение между группами А и С.

К.Кимбер [5] предположила, что сорго было окультурено в Восточной Африке примерно 3-6 тыс. лет назад, затем распространилось по всему африканскому континенту и проникло в Азию лишь в первом тысячелетии нашей эры. Вследствие огромного разнообразия и большого числа промежуточных форм существуют различные и достаточно сложные ботанические системы зернового сорго [6, 7]. В исследовании стержневой коллекции сорго с использованием PDRF-маркеров [8] было идентифицировано два

основных географических пула в генофонде культуры, связанных с регионами Африки к северу или к югу от экватора. Большинство азиатских образцов сорго объединялось с африканскими в разных кластерах. Возможно, такая дивергенция в эволюции африканского сорго связана с этнической изоляцией племен, существовавшей еще в доисторическое время [9].

На основе анализа сорго с использованием STS- и InDel-маркеров риса мы также показали наличие в генофонде африканского сорго двух основных центров генетического разнообразия. Они соответствуют двум генетически наиболее различающимся группам: С, которая включает образцы из Восточной Африки (Уганды и Танзании), и А, содержащей образцы из других регионов этого континента.

Поскольку в нашем исследовании азиатские образцы сорго сформировали самостоятельную генетическую группу (В), мы впервые предлагаем выделить азиатское сорго в самостоятельный, третий центр генетического разнообразия этой культуры. По нашим данным, азиатское сорго, по-видимому, имеет восточноафриканское происхождение: различия в расположении их сортов на рис. 2 определяются только второй главной осью. Однако мы представляем его как самостоятельный центр генетического разнообразия этой культуры, который имеет длительный период независимой эволюции. Об этом также свидетельствует

выявленная нами дифференциация азиатского сорго на южноазиатское (подкластеры 1-3), центральноазиатское (подкластер 4) и восточноазиатское (подкластер 5). Следует отметить, что образцы сорго из Центральной Азии впервые изучены нами с использованием ДНК-маркеров и показана их генетическая уникальность. Наиболее полно они представлены в коллекции ВИР и практически отсутствуют в других коллекциях.

Литература. 1. *International Rice Genome Sequencing Project. The map-based sequence of the rice genome // Nature.* – 2005. – V. 436. – № 7052. – С. 793-800. 2. *TIGR syntenic blocks between rice and sorghum // In: Rice Genome Annotation.* – 2007. – http://www.tigr.org/tdb/syteny/sorghum/figureview_desc.shtml. 3. *Campbell M. A., Zhu W., Jiang N. et al. Identification and characterization of lineage-specific genes within the Poaceae // Plant Physiology.* – 2007. – V. 145. – Iss. 4. – P. 1313-1322. 4. *Стрельченко П. П., Митрофанова О. П., Конярев А. В. Сравнение возможностей RAPD-, AFLP- и SSR-маркеров для различения местных сортов гексаплоидных пшениц // Аграрная Россия.* – 2004. – № 6. – С. 3-9. 5. *Kimber C. T. Origins of domesticated sorghum and its early diffusion to India and China. In: Sorghum: Origin, History, Technology, and Production // eds. Smith, C., Frederiksen, R., New York: John Wiley and Sons, 2000.* – P. 3-98. 6. *Якушевский Е. С. Видовой состав сорго и его селекционное использование // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции.* – Л.: ВИР, 1969. – Т. 41. – Вып. 2. – С. 148-178. 7. *Harlan J., de Wet J. A simplified classification of cultivated sorghum // Crop Science.* – 1972. – V. 12. – Iss. 2. – P. 172-186. 8. *Deu M., Rattunde F., Chantreau J. A global view of genetic diversity in cultivated sorghums using a core collection // Genome.* – 2006. – V. 49. – № 2. – С. 168-180. 9. *Doggett H. Sorghum // London: Longman Scientific and Technical, 1988.*

Поступила в редакцию 22.09.09

Strelchenko P.P., Romanova O.I., Konarev A.V., Okuno K. Global centers of grain sorghum genetic diversity identification using rice dna markers

STS- and InDel-markers developed from sequences of the certain rice genes have been used for the comparative study of grain sorghum accessions. Three principal global centers of grain sorghum genetic diversity were identified. Two of these were connected with Africa. The third center has been formed in Central, East and South Asian regions.

УДК 634.1:581.13

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПИТАНИЯ ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР

Н.Н.Сергеева, М.В.Захарова, кандидаты сельскохозяйственных наук, **Ю.Ф.Якуба**, кандидат технических наук
(Представлено академиком Россельхозакадемии **Г.В.Еремным**)

*Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства, 350901, Краснодар
E-mail: sady63@bk.ru*

Получены экспериментальные данные анализа минерального состава индикаторных органов яблони с помощью метода капиллярного электрофореза в полевых стационарных опытах с удобрением плодовых культур. Выявлены закономерности изменения в соотношении общих и подвижных форм основных элементов питания по фазам развития растений.

Ключевые слова: яблоня, калий, кальций, магний, капиллярный электрофорез, диагностика питания

Key words: apple tree, potassium, calcium, magnesium, capillary electrophoresis, nutrition diagnostics

Использование количественных экспресс-методов с привлечением современной приборной базы для изучения динамики подвижных форм макро- и микроэлементов, органических соединений в растениях в связи

с формообразовательным процессом – перспективное направление диагностики состояния многолетних плодовых культур. Оно способствует расширению круга анализов, пополнению знаний о физиологии питания