

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ СОРТОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР ПО ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИМ СПЕКТРАМ ЗАПАСНЫХ БЕЛКОВ

Н. К. Губарева, И. П. Гаврилюк, А. В. Конарев

Работы по использованию запасных белков зерна как маркеров в изучении генетических ресурсов растений, идентификации сортов пшеницы и других злаков были начаты во ВИР под руководством В. Г. Конарева в 1967 г., когда в институте была создана лаборатория белка и нуклеиновых кислот, переименованная позже в отдел молекулярной биологии. Преимущество белка как генетического маркера связано с тем, что белок является первичным и непосредственным продуктом генетической системы. Для идентификации сортов пшеницы, ячменя, овса и других зерновых культур используют электрофорез в вертикальных пластинах 6,5 % ПААГ в кислой среде. В статье обсуждаются некоторые итоги и перспективы использования электрофореза запасных белков семян злаков — проламинов — в идентификации сортов, а также пути стандартизации этого метода. На примере пшеницы и ячменя показана перспективность использования его в селекции, семеноводстве, семенном контроле, а также в генных банках для изучения, систематизации и документации генофонда культурных растений и их диких родичей, для контроля за генетической стабильностью образцов, выявления дублетов или генетически близких образцов. К настоящему времени в виде белковых формул зарегистрировано более 5000 образцов пшеницы, ячменя, овса из коллекции ВИР; составлено 20 каталогов белковых формул, в том числе 7 в электронном виде. Отмечена роль академика РАСХН В. Г. Конарева (1915 – 2006) и руководимого им коллектива в разработке отечественных и международных (в сотрудничестве с ISTA — International Seed Testing Association) стандартных лабораторных методов семенного контроля (идентификации сортов), основанных на электрофорезе запасных белков семян.

**Ключевые слова:** запасные белки семян; электрофорез белков; международные стандартные лабораторные методы семенного контроля.

Идентификация генетических ресурсов растений и сортов, в частности по спектрам запасных белков семян, — направления, которые В. Г. Конарев в последние десятилетия считал особенно наиболее для себя и своего коллектива приоритетными и важными, результатами которых он всегда гордился. Его последний труд (не считая «Научной биографии с воспоминаниями о прошлом», 2004 г.) — составленное им методическое руководство «Идентификация сортов и регистрация генофонда культурных растений по белкам семян» (2000 г.) стало без преувеличения настольной книгой для лабораторий семенного контроля системы Россельхознадзора РФ, селекционных учреждений, а также многих других, использующих в своей работе белки семян как маркеры в решении вопросов идентификации, паспортизации, генетической целостности и подлинности исходного и селекционного материала, охраны авторских прав на сорта и доноры и многие другие [1].

Работы по использованию запасных белков зерна как маркеров в изучении генетических ресурсов растений, идентификации сортов пшеницы и других злаков были начаты в ВИР под руководством В. Г. Конарева в 1967 г., когда в ВИР была создана лаборатория белка и нуклеиновых кислот, переименованная позже в отдел молекулярной биологии. Преимущество белка как генетического маркера связано с тем, что белок является первичным и непосредственным продуктом генети-

ческой системы. Белки в наименьшей мере подвержены фенотипической изменчивости и соответственно обладают хорошо выраженной биологической специфичностью [2 – 5]. Среди белковых маркеров у растений особое положение занимают белки семян. Эти высокополимерные белки дают возможность с достаточной полнотой идентифицировать генофонд сортов, различать и регистрировать их биотипы, гибридные линии, анализировать сортовые, гибридные и естественные популяции. Разработка электрофоретических методов сортовой идентификации по белкам зерна началась со злаков на мономерных (неагрегированных) проламинах — глиадине пшеницы и гордеине ячменя [3]. Первые итоги этих работ были подкреплены авторским свидетельством [6]. В настоящее время различение и идентификацию сортов пшеницы, ячменя, овса и других злаковых культур методом электрофоретического анализа белков эндосперма семян — проламинов — широко применяют во многих странах мира. Международная ассоциация по семенному контролю International Seed Testing Association (ISTA) включила его в Международные правила семенного контроля. Сотрудничество ВИР с ISTA в области разработки методов сортовой идентификации началось в 1972 – 1973 гг. Разработанная в ВИР модификация электрофореза проламина в вертикальных пластинах полиакриламидного геля в кислой среде [6] рекомендована XIX Конгрессом ISTA (1983 г.) как стандартный арбитражный метод для

идентификации сортов пшеницы и ячменя в семеноводстве и семенном контроле [5]. Биохимической идентификации сортов посвящен ряд международных симпозиумов, один из которых был проведен в ВИР в 1987 г. [7, 8]. Институт участвовал и в разработке методов идентификации по белковым спектрам семян овса, гороха, кукурузы и других культур, включенных позже в Международные правила семенного контроля [9]. В 1989 г. Госагропром СССР, ВАСХНИЛ, ВИР, Госкомиссия по сортоиспытанию издали рекомендации по использованию белковых маркеров [10]. При подготовке рекомендаций учтен многолетний опыт работы биохимической группы ISTA и ВИР по разработке стандартных арбитражных методов электрофореза белков для Международных правил семенного контроля. Большой заслугой В. Г. Конарева и руководимого им отдела является разработка метода регистрации сортов в виде белковых формул. Запись сортов в виде белковых формул удобна для хранения информации и обработки ее на компьютерах. Для коллекций растительных ресурсов ВИР возможность регистрации в виде формул позволяет быстро установить оригинальность и новизну вновь поступающих в коллекцию образцов, исключить дублирование, провести экспертизу материалов, полученных от селекционеров.

## Методы исследования

В ВИР используют два основных стандартных лабораторных метода для идентификации сортов по электрофоретическим спектрам запасных белков семян:

1. Электрофорез в пластинах полиакриламидного геля (ПААГ) в ацетатном буфере, рН 3,1.

2. SDS-ПААГ электрофорез в присутствии или отсутствии редуцирующего агента в трис-буфере, рН 6,8 или 8,3.

Для идентификации сортов пшеницы, ячменя, овса и других зерновых культур используют электрофорез в вертикальных пластинах 6,5 % ПААГ в кислой среде.

Проламины выделяют из отдельных зерновок. Для определения сортовой принадлежности и идентичности образца достаточно двух выборок по 50 зерен. Позерновой анализ позволяет выявлять две категории сортов — мономорфные (один тип спектра) и полиморфные (от двух и более типов спектра). Электрофоретический спектр отдельной зерновки маркирует соответствующий ей биотип. На компонентный состав проламина не влияют ни условия выращивания, ни сроки хранения зерна. У полиморфных сортов доминируют обычно 1–3 биотипа, на которые приходится 80–90 % популяции сорта. Они, как правило, и служат главным объектом внимания при оценке специфичности таких сортов [1, 4, 11].

## Результаты и обсуждение

Электрофоретические спектры проламинов по составу и подвижности компонентов неодинаковы и спе-

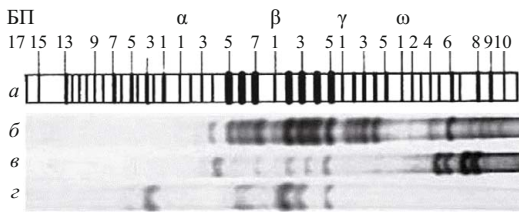
цифичны для большинства сортов и биотипов пшеницы и ячменя. Для описания результатов анализа и обработки информации, заключенной в электрофоретических спектрах проламина, разработан способ записи электрофоретических спектров в виде белковых или сортовых формул по эталонному спектру, составленному на основании сравнительного изучения электрофоретических спектров глиаина большого числа сортов и биотипов пшеницы [12]. Эталонный спектр состоит из четырех зон, соответствующих биохимическим фракциям  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\omega$  [13] и дополнен зоной быстрых проламинов — БП, характерной для проламинов овса и проламинов кормовых злаков [14–16]. Каждая зона содержит определенное число позиций, которые могут быть заняты электрофоретическими компонентами глиаина, гордеина, авенина или проламинов других злаков.

Разработана номенклатура компонентов электрофоретического спектра проламинов. В целом эталонный спектр проламина имеет следующую структуру: БП654321 $\alpha$ 1234567 $\beta$ 12345 $\gamma$ 12345 $\omega$ 12345678910...

В пределах каждой зоны основные возможные позиции компонентов занумерованы к старту. Некоторые позиции, например,  $\omega$ -4, -6, -8 и -9, представлены двумя и более альтернативными субкомпонентами. Они кодируются аллелями одного гена и записываются соответственно  $\omega$ <sub>4</sub><sub>1</sub>,  $\omega$ <sub>4</sub><sub>2</sub>;  $\omega$ <sub>6</sub><sub>1</sub>,  $\omega$ <sub>6</sub><sub>2</sub>;  $\omega$ <sub>8</sub><sub>1</sub>,  $\omega$ <sub>8</sub><sub>2</sub>;  $\omega$ <sub>9</sub><sub>1</sub>,  $\omega$ <sub>9</sub><sub>2</sub>,  $\omega$ <sub>9</sub><sub>3</sub>. Индекс 1 у номера позиции указывает на смещение компонента в сторону быстрого соседнего компонента, индекс 2 — среднее положение, индекс 3 — на смещение в сторону более медленного компонента. Иногда все субпозиции заняты. Это означает, что они контролируются разными генами, например, генами разных геномов у тетраплоидных и гексаплоидных пшениц. В сортовых формулах это записывают следующим образом:  $\omega$ <sub>4</sub><sub>1</sub><sub>4</sub><sub>2</sub>;  $\omega$ <sub>6</sub><sub>1</sub><sub>6</sub><sub>2</sub>;  $\omega$ <sub>8</sub><sub>1</sub><sub>8</sub><sub>2</sub> и т.д.

Выявлено широкое разнообразие типов электрофоретического спектра проламина. Оно создается за счет общего числа компонентов, их различного сочетания как в отдельных зонах, так и в целом спектре, а также за счет степени интенсивности одинаковых по электрофоретической подвижности компонентов. В сортовых формулах интенсивные компоненты печатают жирным шрифтом, слабые — подчеркивают. По эталонному спектру спектры проламина любого сорта пшеницы, ячменя и других злаков можно записать в виде белковой формулы (рис. 1). Для идентификации компонентов и составления формулы анализируемого образца целесообразно на каждой пластине геля иметь спектр сорта, формула которого известна. На рис. 2 представлены электрофоретические спектры глиаина четырех сортов озимой мягкой пшеницы.

При составлении таблиц белковых формул для электронного каталога удобнее использовать цифровую оценку интенсивности компонентов в баллах, но без детальной градации — не более чем по пятибалль-



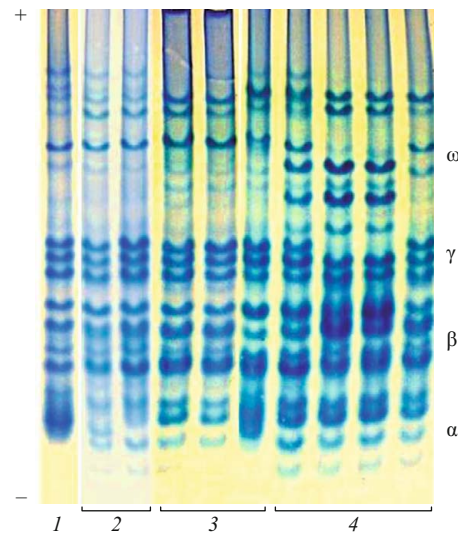
**Рис. 1.** Эталонный спектр проламинов (а), спектры глиадина пшеницы сорта Мироновская 808 (б), гордеина ячменя сорта Тюрингия (в), авенина овса сорта Аргмак (г)  
Сортные формулы: Мироновская 808 —  $\alpha 24567_1\beta 123_45_2$   
 $\gamma 2_22_334\omega 24_256_819_19_310_2$ ; Тюрингия —  $\alpha 3467_1\beta 123_35_2\omega 56_27_28$ ;  
Аргмак —  $\beta 1531\alpha 67_1\beta 13_25_2$

ной системе, при этом основными ступенями являются: слабая (2 балла), средняя (3 балла), высокая (4 балла) и очень высокая (5 баллов). Очень слабые компоненты (1 балл) часто нестабильны и не всегда учитываются. Регистрация сортов в виде белковых формул удобна для хранения и обработки полученной информации. Особенно необходима регистрация для стародавних сортов и сортов народной селекции с целью сохранения сортового генофонда и для генотипов пшеницы и ее диких сородичей, несущих хозяйственно-ценные признаки и представляющих интерес для селекции [17]. Базы информации о генофонде пшеницы и других злаков, основанные на спектрах проламина, существуют в виде каталогов и компьютерных баз данных.

Сравнительный анализ сортных формул как мягких, так и твердых пшениц отечественной и зарубежной селекций дает возможность наряду с сортами, имеющими специфические (уникальные) спектры глиадина, выделить группы сортов с одинаковым типом спектра глиадина. Анализ таких групп показал, что они, как правило, представляют собой генетически близкие сорта. Многие из них являются сортами «одной селекции», т.е. имеют общее происхождение [18].

Таким образом, по электрофоретическим спектрам проламина и сортным формулам можно судить о геномном составе, происхождении и генетической структуре сорта, его принадлежности к той или иной группе селекции, контролировать подлинность и чистоту от создания до производственного использования. Технология позволяет контролировать генетическую целостность и подлинность сорта при длительном хранении и многократном репродуцировании, выявлять дублетный материал. При этом необходимо, чтобы первичный анализ сорта по белковым маркерам проводили на оригинальном материале [19, 20].

Выявление и идентификация дублетов — одна из острых проблем, стоящих перед генными банками. Так, анализ образцов яровой мягкой пшеницы из коллекции ВИР выявил среди образцов с одинаковым сортным названием, но с разными каталожными номерами, идентичные по спектрам глиадина образцы, что является веским аргументом для отнесения этих образцов к дублетам (таблица). Идентичные по спектрам образцы выявлены и при анализе озимой мягкой пшеницы из



**Рис. 2.** Электрофоретические спектры глиадина сортов озимой мягкой пшеницы: 1 — Донская юбилейная; 2 — Северодонская юбилейная; 3 — Уманка; 4 — Родник Тарасовский

Китая [21]. В случае подтверждения дублетной природы таких образцов и по другим признакам они могут храниться в коллекциях как резервный материал.

Выявлены образцы с одинаковым сортным названием, но имеющие различные по компонентному составу типы спектров глиадина, что свидетельствует о целесообразности их хранения под разными каталожными номерами. При репродуцировании полиморфных сортов может меняться соотношение основных и минорных биотипов. Часто возникает ситуация, когда спектры репродуцированных образцов не соответствуют оригиналам. Эти данные свидетельствуют о необходимости контроля за генетическим (генотипическим) составом коллекций злаковых культур, хранящихся в ВИР [22] и других генбанках.

Большинство сортов при электрофорезе в ПААГ в кислой среде имеют специфичные спектры проламинов. В последние годы стали появляться сорта как пшеницы, так и ячменя с идентичными спектрами проламина. В основном это близкородственные сорта (или сорта одной группы селекции). Для различения таких сортов в Правилах ISTA с 2014 г. предлагается использовать другой метод электрофореза проламинов — электрофорез в диссоциирующей системе с додецилсульфатом натрия (SDS-электрофорез). Для различения сортов и биотипов пшеницы с идентичными спектрами глиадина можно также использовать высокоагрегированный белок — глютенин, который, как и глиадин, является запасным белком эндосперма зерновки пшеницы. По электрофоретическим спектрам глютенина в SDS-электрофорезе можно различать сорта и биотипы пшеницы с идентичными спектрами глиадина [23]. Таким образом удалось различить идентичные по спектрам глиадина биотипы староместных сортов озимой пшеницы из коллекции ВИР. SDS-электрофорез про-

дили в системе, предложенной Лаемли [24], с некоторыми модификациями [23].

Среди сортов пивоваренного ячменя при электрофорезе в кислом геле все чаще встречаются сорта с идентичными спектрами гордеинов. В основном это сорта западно-европейского происхождения. Так, идентичны по компонентному составу гордеина сорта Скарлетт и Ксанаду, известно, что Скарлетт — одна из родительских форм Ксанаду; сорту Пасадена по спектру гордеина идентичны полученные с его участием сорта Беатрис и Serbinetta; сорту Марни идентичен сорт Грейс, полученный с участием сорта Марни. Использование SDS-электрофореза [7] позволило выявить различия между этими сортами ячменя по спектрам гордеина (рис. 3). Таким образом, методом SDS-электрофореза можно различать сорта зерновых культур, не различающихся по спектрам проламина в стандартном кислом геле [25].

В настоящее время белковые маркеры широко используют в сортоиспытании и семеноводстве. В сис-

теме сортоиспытания методы белковых маркеров применяют для определения происхождения и оригинальности сорта, гомогенности и константности принятых на испытание и вновь районированных сортов пшеницы, ячменя и других культур. Белковые маркеры наряду с традиционной схемой (полевая апробация и др.) используют для определения сортовой чистоты в семеноводстве и семенном контроле. Метод позволяет вести отбор элитных растений и потомств. Особое значение белковые маркеры имеют в последующих звеньях первичного семеноводства — в питомниках испытания потомств и размножения, где обязателен контроль появления нетипичных для сорта растений. Контроль посредством электрофореза белков отдельных семян повышает эффективность решения практических вопросов семеноводства и семенного контроля, позволяет сократить сроки создания элиты с семи до пяти лет, что показано на примере первичного семеноводства сорта ячменя Криничный [2, 10, 26].

#### Белковые формулы спектров глиаина яровой мягкой пшеницы

№ каталога ВИР, название, происхождение	Формула глиаина				Частота встречаемости, %
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\omega$	
к-31235, Heines Kolben	$\underline{2} \ 4 \ 6_2 7_1$	$2 \ 3_3 4_2 5_2$	$\underline{2}_2 3_4$	$4_1 \underline{5}_1 6_2 \underline{6}_3 \ 8_1 9_1 9_3 10_2$	100
к-35754, Heines Kolben	«	«	«	«	«
к-43218, 362 B1 E4	$\underline{5} 6_1 7_1 \underline{7}_2$	$23_2 4_2 5_2$	$2_1 3 \ 5$	$4_1 5_1 6_1 6_3 \underline{7}_2 8_2 9_2$	100
к-44691, 362 B1 E4	«	«	«	«	«
к-40161, Marquis × Svalof II 69	$\underline{5} 6_1 \underline{7}_1$	$23_2 4_2 5_2$	$2_1 3_4$	$4_1 4_2 \ 6_1 7_1 8_1 8_2 9_2$	100
к-41920, Marquis × Svalof II 69	«	«	«	«	«
к-49383, Иртышанка 7	$5 \ 7_1$	$2_1 2_2 3_3 4_1 5_2$	$2_2 2_3 3_4$	$\underline{2} 3_4 2_5 6_2 \ 8_2 9_2$	100
к-52722, Иртышанка 7	«	«	«	«	«
к-45858, Грекум 114	$\underline{5} 6_1 7_1$	$23_2 4_1 4_2 5_2$	$2_1 3_4$	$3_4 2_5 6_1 6_3 7_2 8_2 9_2$	100
к-47886, Грекум 114	«	«	«	«	«
к-38414, Cadet	$\underline{2} \ 4 \ 6_1 7_1$	$23_2 4_2 5_2$	$2_1 3_4$	$2 \ 4_2 \ 6_2 7_1 8_1 8_2 9_2$	100
к-41356, Cadet	«	«	«	«	«
к-33980, No. 159	$\underline{5} 6_1 7_1$	$23_1 4_2 5_2$	$2_1 3_4$	$3_4 2_5 \ 6_3 8_1 8_2 9_2$	90
	$\underline{5} 6_1 7_1$	$23_1 4_2 5_2$	$2_1 3_4$	$3_4 2_5 \ 6_3 \ 8_1 8_2 9_2$	10
к-37344, No. 159	$\underline{5} 6_1 7_1$	$23_1 4_2 5_2$	$2_1 3_4$	$3_4 2_5 \ 6_3 \ 8_1 8_2 9_2$	54
	$\underline{5} 6_1 7_1$	$23_1 4_2 5_2$	$2_1 3_4$	$3_4 2_5 \ 6_3 \ 8_1 \ 9_2$	46
к-25871, Huron	$\underline{5} 6_1 7_1$	$23_1 4_2 5_2$	$2_1 3 \ 5$	$4_2 4_3 \ 6_3 8_1 9_1 9_3 10_2$	100
к-29443, Huron	«	«	«	«	«
к-5936, Huron	$\underline{5} 6_1 7_1 \underline{7}_2$	$23_2 4_2 5_2$	$2_1 3_4 5$	$23_4 2_5 \ 6_3 \ 8_2 9_2$	40
	$\underline{5} 6_1 7_1$	$23_2 4_2 5_2$	$2_2 3 \ 5$	$2 \ 4_2 5_2 6_1 6_3 8_1 8_2 9_2$	40
	$5 \ 7_1 \underline{7}_2$	$23_2 4_2 5_2$	$2_1 2_3 3_4$	$3 \ 6_2 \ 8_2 9_2$	20
к-58941, Maya-Pavon	$\underline{2} \ 4_5 \ 6_2 7_1$	$23_1 4_2 5_1$	$\underline{2}_2 2_3 3_4$	$3_4 2_5 6_1 \ 8_2 9_2 10_1$	100
к-59201, Pavon S	«	«	«	«	100
к-54403, Pavon F 76	$\underline{5} 6_1 6_2 7_1 \underline{7}_2$	$23_1 4_2 5_1 5_2$	$2_1 2_2 3_4 5$	$4_1 4_3 \ 6_2 \ 8_1 8_2 9_2$	100
к-35284, Florence	$2 \ 4 \ 6_1 7_1$	$23_1 3_2 4_2 5_2$	$2_1 3_4$	$23_4 2_5 6_1 7_1 8_1 8_2 9_2$	100
к-34056, Quality	«	«	«	«	100
к-3704, Florence	$2 \ 4 \ 6_1 7_1$	$23_1 3_2 4_2 5_2$	$2_1 3_4$	$23_4 2_5 \ 6_2 7_1 8_1 9_1 9_3 10_2$	100
к-5026, Marquis	$2 \ 4 \ 6_1 7_1$	$23_1 4_2 5_2$	$2_1 3_4$	$23_4 2_5 \ 6_2 6_3 \ 8_1 8_2 9_2$	100
к-29510, Marquis	«	«	«	«	100
к-29614, Marquis	«	«	«	«	90
	$\underline{5} 6_2 7_1$	$23_1 4_2 5_2$	$2_1 3_4$	$23_4 2_5 \ 6_2 6_3 \ 8_1 8_2 9_2$	10



Внедрение результатов научных исследований в практику сопряжено со многими трудностями организационного, финансового, а также порой и юридического характера. Методу сортовой идентификации пришлось преодолеть все вышеназванные препоны. Несмотря на его высокие надежность и эффективность, метод до сих пор не является обязательным (в отличие от многих стран) для применения в РФ при коммерческом обороте семян, партий зерна, а также в процессе семеноводства и семенного контроля. Не используются возможности метода и в процессе экспортно-импортных операций, что было бы особенно важно для предохранения товарного и семенного рынка страны от недоброкачественной семенной и товарной продукции. Но несмотря на трудности, от радно отметить, что в последние годы возрос интерес к внедрению метода в работу контролирующих органов РФ (Россельхозцентра и Россельхознадзора). Это выражается, в первую очередь, в активизации обучения (стажировок) специалистов названных структур в отделе биохимии и молекулярной биологии ВИР им. Н. И. Вавилова, определенном в 2001 г. как методический центр по «Разработке, совершенствованию и внедрению методов белковых маркеров в практику семенного контроля, семеноводство и селекцию» (Решение Бюро отделения растениеводства Россельхозакадемии от 28.02.2001). Только в 2013 – 2015 гг. в отделе биохимии и молекулярной лаборатории ВИР прошли обучение «стандартным методам идентификации сортов с.-х. культур по электрофоретическим спектрам запасных белков» специалисты ФГБУ «Ростовского референтного центра Россельхознадзора» (пшеница, ячмень, подсолнечник), ФГБУ Татарской МВЛ Россельхознадзора (пшеница, ячмень, кукуруза), ФГБУ Краснодарской МВЛ Россельхознадзора (ячмень, кукуруза, подсолнечник), ФГБУ Нижегородского референтного центра Россельхознадзора (пшеница, ячмень), ФГБУ Брянской МВЛ Россельхознадзора (ячмень, тритикале, овес). Помимо вышеназванных структур в ВИР проходят обучение стандартным методам электрофореза белков для сортовой идентификации специалисты селекционных учреждений (НИИ), агрофирм, пивоваренных и солодовенных заводов (компаний) и др.

## Заключение

Таким образом, на основе запасных белков семян разработаны принципы и технология молекулярно-генетического маркирования растений для решения актуальных проблем прикладной ботаники, генетики и селекции. Белки семян как генетические маркеры эффективны в изучении, систематизации и документации генофонда культурных растений и их диких родичей, в контроле за генетической стабильностью образцов, для выявления дублетов или генетически близких образцов; регистрация коллекционных образцов по спектрам белков способствует сохранению генетического

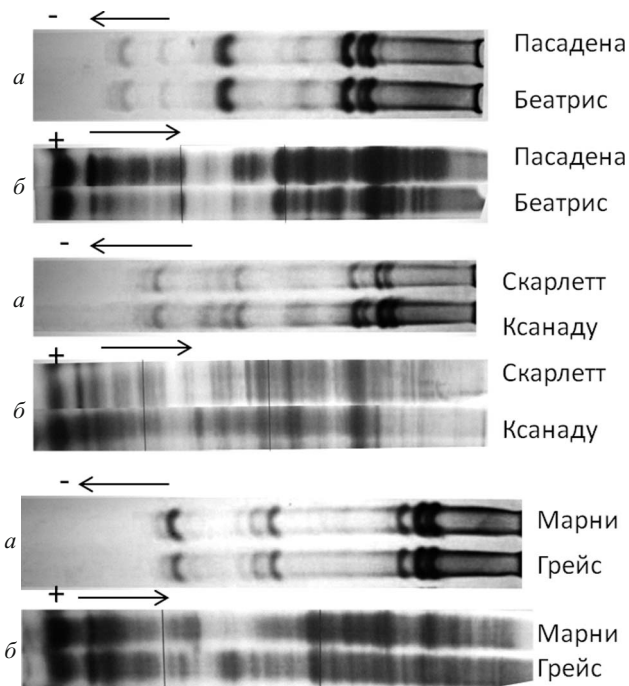


Рис. 3. Электрофоретические спектры гордеина сортов ячменя в кислом ПААГ (а) и в SDS ПААГ (б)

разнообразия. К настоящему времени в виде белковых формул зарегистрировано более 5000 образцов пшеницы, ячменя, овса из коллекции ВИР. Составлено 20 каталогов белковых формул, в том числе 7 в электронном виде.

Белковые маркеры за почти 40-летний опыт их использования в решении проблем генетических ресурсов растений (генных банков), а также в селекции, семенном контроле и семеноводстве доказали надежность и относительную простоту применения на практике. Несмотря на бурно развивающиеся новые молекулярные подходы и технологии, они остаются надежным инструментом в решении актуальных, теоретически и практически важных проблем (в том числе стратегически важных для страны) исходного материала, селекции, семеноводства и семенного контроля. Важным аргументом в пользу высказанного утверждения является тот факт, что, несмотря на сильнейшее давление со стороны разработчиков так называемых молекулярных методов идентификации сортов (основанных на анализе полиморфизма ДНК) и фирм, производителей дорогостоящего оборудования (в частности амплификаторов), сортовой комитете ISTA продолжает рассматривать электрофорез белков как основной арбитражный лабораторный метод семенного контроля. Разработка ДНК-методов, соответствующих требованиям к стандартным (арбитражным) методам семенного контроля, интенсивно ведется во многих зарубежных и российских лабораториях. В свою очередь, ISTA (Variety Committee Working Group) в 2008 г. провела первый сравнительный испытательный тест на пригодность ДНК(SSR)-маркеров в качестве стандартной

системы для идентификации сортов пшеницы, риса, сои, кукурузы. Отмечена хорошая воспроизводимость результатов. Проблемы возникли с системами визуализации, в частности, расхождения имели место в оценке размеров аллелей. В последующие годы тестирование ДНК-методов было продолжено [27].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Идентификация сортов и регистрация генофонда культурных растений по белкам семян / Под ред. В. Г. Конарева. — СПб.: ВИР, 2000. С. 3 – 181.
2. Конарев В. Г. Белки растений как генетические маркеры. — М.: Колос, 1983. С. 5 – 25.
3. Конарев В. Г. / Тр. по прикл. бот., генет. и селек. 1987. Т. 114. С. 3 – 14.
4. Конарев В. Г. Морфогенез и молекулярно-биологический анализ растений. — СПб.: ВИР, 2001. С. 172 – 195.
5. Конарев А. В. / Аграрная Россия. 2006. № 6. С. 4 – 22.
6. Конарев В. Г., Гаврилюк И. П., Губарева Н. К. Способ сортовой идентификации зерна и муки. А. с. № 507271. Заявка 1 сентября 1972 г.; опублик. 11 ноября 1975 г. Бюл. № 11.
7. Cook R. J. The standartizations of electrophoresis methods for variety identification / Biochemical Identification of Varieties: Mater. of 3rd Int. Symp. ISTA, USSR. — Leningrad: Izd. VIR, 1988. P. 14 – 27.
8. Konarev V. G., Gavriljuk I. P. (eds.). Biochemical Identification of Varieties: Mater. of 3rd Int. Symp. ISTA., 1987. — Leningrad, 1988. P. 28 – 257.
9. Int. Rules for Seed Testing. Rules 1996. Verification of species and cultivar / Seed Sci. Technol. 1996. Suppl. 24. P. 253 – 270.
10. Рекомендации по использованию белковых маркеров в сортоиспытании, семеноводстве и семенном контроле / Под ред. В. Г. Конарева. — М. – Л.: Госагропром СССР, ВИР, 1989. С. 2 – 18.
11. Созинов А. А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции. — М.: Наука, 1985. С. 202 – 223.
12. Конарев В. Г., Гаврилюк И. П., Губарева Н. К. Сортовая идентификация и регистрация генетических ресурсов пшеницы по электрофоретическому спектру глиадина / Генетические ресурсы пшеницы. — Л., 1976. С. 113 – 120.
13. Woychik J. H., Boyndy J. A., Dimler R. J. Starch-gel electrophoresis of wheat gluten proteins with concentrated urea / Arch. Biochem. Biophys. 1961. V. 94. P. 477 – 482.
14. Конарев А. В., Семихов В. Ф., Примак С. П., Арефьева Л. П. О составе спирторастворимой фракции белков семян злаков / С.-х. биол. 1984. № 7. С. 13 – 17.
15. Губарева Н. К., Юмагузина Х. А., Павлова Н. Е. / Тр. по прикл. бот., генет. и селек. 1987. Т. 114. С. 76 – 81.
16. Зеленская Я. Г., Конарев А. В., Лоскутов И. Г. и др. / Аграрная Россия. 2004. № 6. С. 50 – 58.
17. Конарев В. Г., Губарева Н. К., Гаврилюк И. П. / Бюл. ВИР. 1982. Вып. 119. С. 60 – 63.
18. Губарева Н. К., Руденко М. И., Чернобурова А. Д. / Тр. по прикл. бот., генет. и селек. 1979. Т. 63. Вып. 3. С. 24 – 31.
19. Конарев А. В., Губарева Н. К., Корнюхин Д. Л., Бернер А. / Аграрная Россия. 2004. № 6. С. 30 – 33.
20. Губарева Н. К., Мартыненко Н. М., Зуев Е. В., Брыкова А. В. / Тр. по прикл. бот., генет. и селек. 2012. Т. 170. С. 158 – 162.
21. Пюккенен В. П., Губарева Н. К., Митрофанова О. П. / Аграрная Россия. 2005. № 2. С. 31 – 35.
22. Алтаьева Н. В., Губарева Н. К. / Аграрная Россия. 2002. № 3. С. 28 – 30.
23. Алтаьева Н. В., Губарева Н. К. / Аграрная Россия. 2002. № 3. С. 24 – 27.
24. Laemmli U. K. Cleavage of structural protein during assembly of the head of bacteriophage / Natura. 1970. V. 227. No. 4. P. 680 – 685.

25. Губарева Н. К., Гаврилюк И. П., Мартыненко Н. М., Егзи Э. Э. Совершенствование методов электрофореза белков для различения близкородственных сортов злаков / Тез. докл. Междунар. науч. конф. «Генетические ресурсы растений — основа продовольственной безопасности и повышения качества жизни», 6 – 8 октября. — СПб., 2014. С. 54.
26. Применение электрофореза белков в первичном семеноводстве зерновых культур: метод. указания / Под ред. В. Г. Конарева и В. Г. Еникеева. — СПб.: ВИР, 1993. С. 18 – 25.
27. Casarini E., Vicario A. L. / ISTA News Bul. April 2008. No. 135. P. 26 – 27.

## REFERENCES

1. Konarev V. G. (ed.). Identifikatsiya sortov i registratsiya genofonda kul'turnykh rastenii po belkam semyan [Identification and registration of varieties of the gene pool of cultivated plants for seed protein]. — St. Petersburg: Izd. VIR, 2000. P. 3 – 181 [in Russian].
2. Konarev V. G. Belki rastenii kak geneticheskie markery [Protein plants as genetic markers]. — Moscow: Kolos, 1983. P. 5 – 25 [in Russian].
3. Konarev V. G. / Tr. Prikl. Bot. Genet. Selekt. 1987. V. 114. P. 3 – 14 [in Russian].
4. Konarev V. G. Morfogenez i molekulyarno-biologicheskii analiz rastenii [Morphogenesis and molecular biological analysis of plants]. — St. Petersburg: Izd. VIR, 2001. P. 172 – 195 [in Russian].
5. Konarev A. V. / Agrar. Ross. 2006. No. 6. P. 4 – 22 [in Russian].
6. Konarev V. G., Gavriljuk I. P., Gubareva N. K. Sposob sortovoi identifikatsii zerna i muki [A method of identifying high-quality grain and flour]. USSR Invvntor's Certificate No. 507271. Byull. Otkryt. Izobret. No. 11 [in Russian].
7. Cook R. J. The standartizations of electrophoresis methods for variety identification / Biochemical Identification of Varieties: Mater. of 3rd Int. Symp. ISTA, USSR. — Leningrad: Izd. VIR, 1988. P. 14 – 27.
8. Konarev V. G., Gavriljuk I. P. (eds.). Biochemical Identification of Varieties: Mater. of 3rd Int. Symp. ISTA., 1987. — Leningrad, 1988. P. 28 – 257.
9. Int. Rules for Seed Testing. Rules 1996. Verification of species and cultivar / Seed Sci. Technol. 1996. Suppl. 24. P. 253 – 270.
10. Konarev V. G. (ed.). Rekomendatsii po ispol'zovaniyu belkovykh markerov v sortoispytanii, semenovodstve i semennom kontrole [Recommendations for the use of protein markers in variety testing, seed production and seed control]. — Moscow – Leningrad: Izd. Gosagroprom SSSR, VIR, 1989. P. 2 – 18 [in Russian].
11. Sozinov A. A. Polimorfizm belkov i ego znachenie v genetike i selektsii [Polymorphism of the protein and its significance in genetics and breeding]. — Moscow: Nauka, 1985. P. 202 – 223 [in Russian].
12. Konarev V. G., Gavriljuk I. P., Gubareva N. K. Sortovaya identifikatsiya i registratsiya geneticheskikh resursov pshenitsy po élektroforeticheskomu spektru gliadina / Geneticheskie resursy pshenitsy [Wheat genetic resources]. — Leningrad, 1976. P. 113 – 120 [in Russian].
13. Woychik J. H., Boyndy J. A., Dimler R. J. Starch-gel electrophoresis of wheat gluten proteins with concentrated urea / Arch. Biochem. Biophys. 1961. V. 94. P. 477 – 482.
14. Konarev A. V., Semikhov V. F., Primak S. P., Aref'eva L. P. O sostave spirtorastvorimoi fraktsii belkov semyan zlakov / Sel'.-Khoz. Biol. 1984. No. 7. P. 13 – 17 [in Russian].
15. Gubareva N. K., Yumaguzina Kh. A., Pavlova N. E. / Tr. Prikl. Bot. Genet. Selekt. 1987. V. 114. P. 76 – 81 [in Russian].
16. Zelenskaya Ya. G., Konarev A. V., Loskutov I. G., et al. / Agrar. Ross. 2004. No. 6. P. 50 – 58 [in Russian].
17. Konarev V. G., Gubareva N. K., Gavriljuk I. P. / Byul. VIR. 1982. Issue 119. P. 60 – 63 [in Russian].

18. Gubareva N. K., Rudenko M. I., Chernoburova A. D. / Tr. Prikl. Bot. Genet. Selek. 1979. V. 63. Issue 3. P. 24 – 31 [in Russian].
19. Konarev A. V., Gubareva N. K., Korniyukhin D. L., Berner A. / Agrar. Ross. 2004. No. 6. P. 30 – 33 [in Russian].
20. Gubareva N. K., Martynenko N. M., Zuev E. V., Brykova A. V. / Tr. Prikl. Bot. Genet. Selek. 2012. V. 170. P. 158 – 162 [in Russian].
21. Pyukkenen V. P., Gubareva N. K., Mitrofanova O. P. / Agrar. Ross. 2005. No. 2. P. 31 – 35 [in Russian].
22. Alpat'eva N. V., Gubareva N. K. / Agrar. Ross. 2002. No. 3. P. 28 – 30 [in Russian].
23. Alpat'eva N. V., Gubareva N. K. / Agrar. Ross. 2002. No. 3. P. 24 – 27 [in Russian].
24. Laemmli U. K. Cleavage of structural protein during assembly of the head of bacteriophage / *Natura*. 1970. V. 227. No. 4. P. 680 – 685.
25. Gubareva N. K., Gavriilyuk I. P., Martynenko N. M., Eggi É. É. [Sovershenstvovanie metodov élektroforeza belkov dlya razlicheniya blizkorodstvennykh sortov zlakov] / Abstrs. of the Int. Sci. Conf. «Geneticheskie resursy rastenii — osnova prodovol'stvennoi bezopasnosti i povysheniya kachestva zhizni [Plant genetic resources — the basis of food security and quality of life]», October 6 – 8, 2014. — St. Petersburg, 2014. P. 54 [in Russian].
26. Konarev V. G., Enikeeva V. G. (eds.). *Primenenie élektroforeza belkov v pervichnom semenovodstve zernovykh kul'tur: metod. ukazaniya* [Application of electrophoresis of proteins in primary seed-growing crops: guidelines]. — St. Petersburg: Izd. VIR, 1993. P. 18 – 25.
27. Casarini E., Vicario A. L. / *ISTA News Bul.* April 2008. No. 135. P. 26 – 27.

Поступила 15.10.2015

*Губарева Н. К., канд. биол. наук; Гаврилюк И. П., докт. биол. наук, проф.;*

*Конарев А. В., докт. биол. наук, проф.*

*Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова (ВИР)*

*a.konarev@vir.nw.ru*