

N. I. VAVILOV ALL-RUSSIAN RESEARCH INSTITUTE
OF PLANT INDUSTRY (VIR)

**PROCEEDINGS ON APPLIED BOTANY,
GENETICS AND BREEDING**

volume 175
issue 4



Editorial board

O. S. Afanasenko, B. Sh. Alimgazieva, I. N. Anisimova, G. A. Batalova, L. A. Bespalova, N. B. Brutch, Y. V. Chesnokov, I. G. Chukhina, A. Diederichsen, N. I. Dzyubenko (Chief Editor), E. I. Gaevskaya (Deputy Chief Editor), K. Hammer, A. V. Kilchevsky, M. M. Levitin, I. G. Loskutov, N. P. Loskutova, S. S. Medvedev, O. P. Mitrofanova, A. I. Morgunov, H. A. Muminjanov, E. K. Potokina, E. E. Radchenko, I. Rashal, A. V. Rodionov, N. I. Savelyev, Z. Sh. Shamsutdinov, L. Y. Shipilina (Executive Secretary), M. M. Silantyeva, Y. M. Sivolap, I. A. Tikhonovich, J. Turok, E. K. Turuspekov, M. A. Vishnyakova.

Editor in charge of this issue: *E. I. Gaevskaya*

ST. PETERSBURG

2014

**ТРУДЫ ПО ПРИКЛАДНОЙ БОТАНИКЕ,
ГЕНЕТИКЕ И СЕЛЕКЦИИ**

**том 175
выпуск 4**



Редакционная коллегия

Б. Ш. Алимгазиева, И. Н. Анисимова, О. С. Афанасенко, Г. А. Баталова, Л. А. Беспалова, Н. Б. Брач, М. А. Вшинякова, Е. И. Гаевская (зам. гл. редактора), А. Дидериксен, Н. И. Дзюбенко (главный редактор), А. В. Кильчевский, М. М. Левитин, И. Г. Лоскутов, Н. П. Лоскутова, С. С. Медведев, О. П. Митрофанова, А. И. Моргунов, Х. А. Муминджанов, Е. К. Потокينا, Е. Е. Радченко, И. Рашаль, А. В. Родионов, Н. И. Савельев, Ю. М. Сиволап, М. М. Силантьева, И. А. Тихонович, Й. Турок, Е. К. Туруспеков, К. Хаммер, Ю. В. Чесноков, И. Г. Чухина, З. Ш. Шамсутдинов, Л. Ю. Шипилина (отв. секретарь).

Ответственный редактор выпуска *Е.И. Гаевская*

УДК 633.1: 633.854.78: 634.2: 635.5: 575.1:581.573.4

ТРУДЫ ПО ПРИКЛАДНОЙ БОТАНИКЕ, ГЕНЕТИКЕ И СЕЛЕКЦИИ. Т. 175.
Вып. 4. СПб.: ВИР, 2014. 117 с.

Представлены результаты работ по мобилизации мировых генетических ресурсов культурных растений и их диких родичей, формированию и сохранению коллекций, идентификации генетического разнообразия коллекционных образцов. Дан обзор сведений о вкладе выдающихся ученых-картофелеводов в создание коллекции картофеля. Освещены аспекты формирования коллекций генетических ресурсов растений Беларуси. Показана значимость экспедиционных обследований для привлечения в коллекции диких родичей культурных растений. Проанализировано фенотипическое и генотипическое разнообразие коллекций по устойчивости к стрессорам. Продемонстрированы молекулярно-генетические подходы для идентификации сортов, генотипов и аллелей генов. Приведены результаты по созданию доноров эффективных генов для селекции. Показана роль генетических коллекций в селекции и решении фундаментальных проблем.

Табл. 17, рис. 20, библиогр. 129 назв.

Для ресурсоведов, ботаников, генетиков, селекционеров, преподавателей вузов биологического и сельскохозяйственного профиля.

PROCEEDINGS ON APPLIED BOTANY, GENETICS AND BREEDING. V. 175.
I. 4. SPb: VIR, 2014. 117 p.

This volume presents the results achieved in the sphere of managing worldwide genetic resources of cultivated plants and their wild relatives, development and conservation of the collections, identification of the genetic diversity of the accessions. The contribution of outstanding potato researchers to the development of the potato collection is reviewed. Some aspects of the formation of plant genetic resources collections in Belarus are highlighted. Plant collecting explorations are shown to serve as an important means of adding crop wild relatives to germplasm holdings. Phenotypic and genotypic diversity of the collections is analyzed for the resistance to stressors. Molecular genetic approaches to identification of varieties, genotypes and gene alleles are demonstrated. The results of the work on creating donors of effective genes for breeding are discussed. The role of genetic collections in plant breeding and in solving fundamental problems is shown.

Tabl. 17, fig. 20, bibl. 129.

Addressed to genetic resources experts, geneticists, plant breeders, and lecturers of biological and agricultural universities and colleges.

Рекомендовано к печати
ученым советом ВИР
(протокол №13 от 18.12.2014)

ISSN 0202-3628
ПИ № ФС77-57455

© Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
Всероссийский научно-исследовательский
институт растениеводства имени Н. И. Вавилова, 2014

**ИСТОРИЯ ВИР, СЛАВНЫЕ ИМЕНА
HISTORY OF VIR: NAMES OF RENOWN**

УДК 58.007

**ВЫДАЮЩИЕСЯ УЧЕНЫЕ-КАРТОФЕЛЕВОДЫ ВИР: ВКЛАД
В РАЗВИТИЕ КОЛЛЕКЦИИ, СЕЛЕКЦИИ
И СИСТЕМАТИКИ КАРТОФЕЛЯ**

Э. В. Трускинов, С. Д. Киру

Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства
им. Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: truskinov@yandex.ru

Резюме

Дан обзор вкладов самых плодотворных ученых ВИР, работавших с коллекцией картофеля и оказавших большое влияние на ее изучение. Решающую роль в интродукции картофеля сыграли экспедиции С. М. Букасова и С. В. Юзепчука 1925–1929 гг. в Центральную и Южную Америку, организованные Н. И. Вавиловым. Большая заслуга в вовлечении дикорастущих видов и форм картофеля в селекцию и выведении ценных сортов принадлежит таким ученым, как И. А. Веселовский, А. Я. Камераз и К. З. Будин. Первостепенное значение для систематики картофеля имели работы С. М. Букасова и В. С. Лехновича. В дальнейшем немалый вклад в изучение морфологических, географических и биологических особенностей, селекцию и семеноводство картофеля внесли Л. Е. Горбатенко, М. А. Вавилова, А. Г. Зыкин.

Ключевые слова: картофель, экспедиции, интродукция, коллекция, систематика, вид, селекция, сорт.

**PROMINENT POTATO RESEARCHERS AT VIR:
THEIR CONTRIBUTION IN POTATO GENE POOL DEVELOPMENT,
SYSTEMATICS AND BREEDING**

E. V. Trouskinov & S. D. Kiru

N. I. Vavilov All-Russian Research Institute of Plant Industry,
St. Petersburg, Russia, e-mail: truskinov@yandex.ru

Summary

This is a review of the most significant contributions of VIR's scientists who worked with potato genetic resources and had a great influence on its introduction, taxonomy studies and breeding. A crucial role was performed by the expedition of S. M. Bukasov and S. V. Juzepchuk to Central and South Americas in 1925–1929, organized by N. I. Vavilov. Further research on the introduced varieties and the development of new valuable cultivars on their basis were the outstanding achievements of I. A. Veselovsky, A. J. Kameras and K. Z. Budin. Of paramount importance were the works on potato systematics carried out by S. M. Bukasov and V. S. Lekhnovich. Further significant contribution to the biogeography, breeding and seed production of potato was made by A. G. Zykin, L. E. Gorbatenko and M. A. Vavilova.

Keywords: potato, expeditions, introduction, collection, systematics, species, breeding, variety.

Их было три патриарха, три старейшины отдела клубнеплодов ВИР, на которых держалась вся наука о культуре картофеля в институте, а во многом – и в стране. Безусловно, С. М. Букасов был главной фигурой в этой троице и по возрасту, и по знаниям, и по научному статусу. Академик, учитель, ботаник-соланолог с мировым именем, многолетний глава и теоретик отечественной школы картофелеводов, мозговой центр и заведующий отделом. А. Я. Камераз – ведущий селекционер, душа, организатор и координатор всей текущей работы отдела. В. С. Лехнович – большая и малая энциклопедия отдела, его информационный центр, ученый-эрудит, прекрасный знаток культуры картофеля.

Сергей Михайлович Букасов был одним из старейших сотрудников института. Поступил на работу в Бюро по прикладной ботанике в 1918 г. еще при Р. Э. Регеле. После переезда Н. И. Вавилова в Петроград он становится его ближайшим помощником. Мало кто знает, что при организации Центральной селекционно-генетической станции в 1922 г. в Детском Селе (г. Пушкин) первым ее руководителем какое-то время был С. М. Букасов. С самого начала своей работы он стал создавать коллекцию сортов картофеля, которая постоянно пополнялась согласно глобальному плану Н. И. Вавилова по сбору мировых растительных ресурсов. С. М. Букасов предпринял экспедицию в Центральную и Южную Америку в 1925–1926 гг. Далее она была продолжена С. В. Юзепчуком. Это были поистине эпохальные экспедиции, заново открывшие богатейший генофонд видов картофеля, которым еще не воспользовалась мировая селекция. Были открыты новые, ранее не описанные виды, в частности, выделен в качестве самостоятельного культурный полиморфный вид *Solanum andigenum* Juz. et Buk. С его участием в дальнейшем было выведено очень много сортов. Во время экспедиции С. М. Букасовым было собрано около 5000 образцов различных сельскохозяйственных культур, использованных в ботаническом изучении и селекционных программах, однако основное внимание и научный поиск были сосредоточены им именно на картофеле.

Главное дело жизни С. М. Букасова – это, конечно, систематика картофеля. Им создана наиболее детализированная и полноценная система видов картофеля. В этой области знаний у него были серьезные оппоненты, например, английский ботаник Джек Хокс. С. М. Букасов неоднократно пересматривал свою систему, но основы ее по-прежнему конструктивны и широко признаны картофелеводами не только у нас, но и за рубежом. Сергей Михайлович был избран иностранным членом Линнеевского общества в Лондоне, членом-корреспондентом Мексиканского географического общества. В 1969 году выпуску студентов Национального университета в Перу было присвоено имя С. М. Букасова. У него были очень давние и хорошие связи с

известным перуанским ученым-ботаником, соланологом Карлосом Очоа. В аспирантуру ВИР был принят молодой ученый из Перу Роберто Мендоса.

С. М. Букасов был при этом совершенно не чужд практическим задачам картофелеводства, селекции и семеноводства. У него было много учеников, аспирантов, работавших в различных научных направлениях, в том числе и таком, как межвидовая гибридизация, ставшая магистральным путем селекции картофеля после экспедиций в Америку, одним из пионеров которых являлся С. М. Букасов. Он был любимым учителем, наставником и другом многих, кто работал при его жизни в отделе клубнеплодов: Л. И. Костиной, В. Н. Роборовской, Л. М. Турулевой, Е. В. Морозовой и др. Можно считать, что всем, кто тогда работал с ним в отделе, очень повезло находиться рядом и ежедневно общаться с таким внешне неброским, но великим по заслугам ученым и большой души человеком. Он прожил долгую жизнь, 92 года, был удостоен многих званий и наград, в том числе Героя Социалистического Труда, присваиваемого действительно выдающимся людям страны.

Вторым по значению или, как теперь говорят, рейтингу, был, безусловно, Абрам Яковлевич Камераз. Это не просто крупный ученый, но и замечательный во всех отношениях человек, о котором все, кто его знал, отзываются с большим уважением. Это был, прежде всего, выдающийся ученый-селекционер картофеля, создавший ряд хороших сортов, из которых самым замечательным был сорт 'Детскосельский', сорт-долгожитель, бывший в широком производстве более 30 лет, очень пластичный, дававший стабильные урожаи из года в год. Надо отдать должное и хорошо налаженному первичному семеноводству сорта в ВИР, осуществляемому под руководством А. Г. Зыкина.

А. Я. Камераз был одним из пионеров межвидовой гибридизации картофеля у нас в стране, на основе которой он получил много ценного селекционного материала. С участием его гибридов другими селекционерами были выведены сорта: 'Богатырь', 'Искра', 'Матвеевский', 'Пионер', 'Рубин', 'Сумской', 'Дальневосточный', 'Хабаровский' и др. При этом надо иметь в виду, что не всегда соавторство и участие ВИР в создании ряда сортов было зафиксировано. После него осталось еще много гибридных семян, с которыми можно было работать долгие годы, но они, к сожалению, не были использованы. В работе у Абрама Яковлевича были прекрасные, преданные делу помощники. Ближайшими из них были В. Н. Иванова и В. А. Непостина.

Отдавая должное А. Я. Камеразу как крупному ученому-картофелеводу, селекционеру, нельзя не отметить еще одну замечательную грань его творческой личности – незаурядный педагогический дар. Не зря он окончил в 1927 году не только факультет земледелия сельскохозяйственного института, но и высшие педагогические курсы при нем, став не только агрономом-растениеводом, но и агрономом-педагогом. И хотя он не преподавал в вузах, у него было много учеников, причем не только аспирантов. Многие специалисты-картофелеводы с полным правом считали его своим учителем. Можно сказать, что А. Я. Камераз был создателем не только сортов, но и целой научной школы. Некоторые его ученики стали видными учеными, создавшими свои

направления в науке и взрастившие свою «научную поросль». Среди них академик Е. П. Киселев, доктора наук Л. Н. Трофимец, И. Я. Понин и др. Этому способствовало и написание им совместно с С. М. Букасовым книги «Селекция картофеля» (Букасов, Камераз, 1948), удостоенной в 1948 г. Государственной (тогда Сталинской) премии. Она на многие годы стала настольной книгой и пособием не одного поколения исследователей картофеля у нас в стране. Примерно 80% этой замечательной монографии, в которой обобщены достижения отечественной, а также мировой теории и практики картофелеводства, написаны А. Я. Камеразом. Книга была переиздана в 1959 г. под названием «Основы селекции картофеля» и в 1972 г. – «Селекция и семеноводство картофеля». Она была существенно дополнена и переработана в соответствии с новыми научными разработками и достижениями. Книга была переведена на иностранные языки. В 1961 г. за этот труд А. Я. Камеразу была присвоена степень доктора сельскохозяйственных наук.

Уже на склоне лет ему пришлось возглавить отдел клубнеплодов ВИР, хотя и до этого на него приходилась львиная доля не только ведущей научной, но организационной работы в коллективе отдела, в том числе составление научных отчетов. Но уже в 1979 г. он перешел на должность научного консультанта, а с 1983 г. исполнял ее на общественных началах. Он был избран председателем Совета ветеранов ВИР. На этом почетном, но мало что решающем посту он пытался сделать многое по части реальной заботы и помощи старым ученым еще вавилонской школы. А. Я. Камераз – один из последних могикан славного вавилонского племени настоящих ученых-вировцев, отдавших всю жизнь науке, один из тех подвижников, которые своими трудами принесли институту всемирную известность и славу.

Третьим из этой теперь уже легендарной тройцы ученых был Вадим Степанович Лехнович. Из всех троих он отличался как внутренней оригинальностью характера, так и своей поистине патриархальной внешностью. О нем существовал ряд анекдотов, по одному из них он прилетел в какой-то город, а в аэропорту ждали высокопоставленного иерарха церкви. Увидев почтенного бородатого Лехновича, старушки приняли его за батюшку и бросились целовать ему руку. Впрочем, он не всегда выглядел таким важным, судя по семейной фотографии, где он изображен вместе с женой О. А. Воскресенской и матерью. На фотографии он выглядит совсем иным, молодым и симпатичным. Ольга Александровна Воскресенская была также очень деятельной сотрудницей отдела клубнеплодов. Во время блокады Ленинграда она вместе с Вадимом Степановичем охраняла и спасала коллекцию картофеля в здании ВИР на Исаакиевской площади. До этого вместе с А. Я. Камеразом собирала клубни сортов и видов на Павловской опытной базе «Красный пахарь». Камераз уносил последние образцы уже перед самым захватом Павловска немцами под вражеским обстрелом и бомбежками, затем ушел воевать в действующую армию. На долю же сотрудников ВИР, оставшихся в блокаде, выпали не менее трудные и трагические дни и ночи выживания и исполнения долга по спасению коллекций.

В. С. Лехнович как ученый был очень разносторонним и энциклопедически образованным человеком, однако главным объектом, предметом его изучения и знания был, конечно, картофель. Им написана очень обстоятельная и, наверное, уникальная в своем роде работа «К истории культуры картофеля в России» (Лехнович, 1954), где приводятся данные по распространению и условиям возделывания картофеля в самых разных регионах государства. Здесь он выступает как географ, историк. Не менее важна его заслуга как ботаника-систематика картофеля. Самая большая по объему и важная по значению часть тома «Картофель» Культурной флоры СССР написана им (Лехнович, 1971). В ней он подробно описывает и систематизирует коллекционные образцы и ботанические формы культурных видов картофеля. К коллекции картофеля он подходил в первую очередь как ботаник, но его интересовали и все селекционные, хозяйственно-ценные признаки коллекционных образцов. Многие годы он курировал работу с картофелем в карантинно-интродукционном питомнике Павловской опытной станции ВИР и много внимания уделял проблемам фитопатологии. Им были выпущены первые методики и обзоры по лечению картофеля от вирусных болезней и микоплазмозов.

В. С. Лехнович относится к плеяде ученых ВИР, память о которых достойна того, чтобы она сохранялась и передавалась новым поколениям сотрудников института. Это его славная история, без которой невозможно представить, тем более строить будущее. Историческим фактом является и то, что он сопровождал Н. И. Вавилова в последнюю экспедицию на Западную Украину. Последняя записка Вавилова адресована Лехновичу, в которой он просит передать его вещи лицам, их затребующим. Что это за лица и куда они сопроводили Николая Ивановича известно. Записку эту В. С. Лехнович сохранил, и теперь это один из самых известных и трагичных документов того времени.

Среди других выдающихся ученых-картофелеводов, долгое время работавших в ВИР, необходимо назвать имя Иоилия Александровича Веселовского. И хотя после войны он работал в Ленинградском сельскохозяйственном институте (ЛСХИ, г. Пушкин), где был заведующим кафедрой селекции и семеноводства плодовых и овощных культур, профессором, значительная и наиболее плодотворная часть его научной и организационной деятельности пришлась на ВИР, куда его пригласил работать сам Н. И. Вавилов. Большие организационные способности И. А. Веселовского были отмечены и именно ему были поручены организация и руководство научно-производственной базой института Калитино, на месте бывшего крупного имения барона Розенбаха, недалеко от станции Кикерино. База стала важным центром работ по селекции и семеноводству зерновых культур, многолетних трав, льна. Сюда были направлены первые сборы видов картофеля из экспедиций С. М. Букасова и С. В. Юзепчука. Мало кто знает, но именно И. А. Веселовский по поручению Н. И. Вавилова нашел оптимальное для выращивания плодовых и ягодных культур место близ Павловска, где в 1926 г.

была создана экспериментальная база, а потом и опытная станция ВИР (Павловская).

Однако самым главным делом его жизни была, конечно, селекция сортов картофеля. Именно здесь он добился наиболее выдающихся результатов как автор ряда известных скороспелых сортов 'Эпрон', 'Калитинец', 'Комсомолец', 'Полярная роза' и др. В создании этих сортов ему помогала жена М. Н. Веселовская. С ВИР была связана и его сестра М. А. Веселовская. Самый же расцвет его творчества пришелся на период работы на Полярной опытной станции ВИР в Хибинах. Здесь им был выведен до сих пор возделываемый в Заполярье ракоустойчивый, ранний, хороших вкусовых качеств сорт 'Имандра'. Сорт получен путем межвидовой гибридизации с видом *S. andigenum*. Путем межсортового скрещивания был выведен ракоустойчивый, среднеранний, урожайный сорт 'Мурманский'. Уже работая в ЛСХИ, он вывел очень ценный сорт 'Веселовский 2-4', с его участием Е. А. Осиповой в свою очередь был выведен замечательный сорт 'Невский', занявший более 40% всех картофельных посадок в стране. И. А. Веселовский был отзывчив на все передовое в науке и сам был инициатором новых технологий в возделывании картофеля. Так, им первым в стране был предложен способ выращивания картофеля из семян. Основные его положения были изложены в брошюре «Картофель семенами северным, горным и отдаленным районам Союза ССР» (1933). В 60-е годы он возглавил «Проблемную лабораторию по полиплоидии картофеля», где велись работы по преодолению нескрещиваемости разных видов картофеля с сортами. За научные заслуги И. А. Веселовский был награжден государственными наградами и званиями. Он прожил долгую, насыщенную творчеством жизнь и умер на 97-м году жизни, побив рекорд долгожительства среди выдающихся картофелеводов, отличавшихся этим редким качеством (А. Г. Лорх, С. М. Букасов, А. Я. Камераз, В. С. Лехнович, К. З. Будин).

С ВИР была связана и почти вся творческая жизнь Константина Захаровича Будина. В 1959 г. директор института Д. Д. Брежнев пригласил его, уже сложившегося ученого-картофелевода, проработавшего ряд лет в НИИ картофельного хозяйства (НИИКХ), на Московское отделение ВИР (МОВИР, п. Михнево, Московская обл.). Научную работу он успешно совмещал с административной, став заведующим лабораторией картофеля, а потом директором МОВИР. В 1966 г. он был переведен в Ленинград, в центр, где был назначен директором Пушкинских лабораторий ВИР (г. Пушкин). В 1968 г. он становится заведующим отделом интродукции ВИР и в том же году – первым заместителем директора института. На этих постах он проявил себя очень активным, умелым, эффективным администратором и специалистом. Константин Захарович организовал несколько экспедиций как внутри страны, так и за рубежом, принимая личное участие во многих из них. Во время двух экспедиций в Мексику в 1968 и 1973 гг. им было собрано много образцов диких видов картофеля. Из этих же экспедиций им были привезены образцы прославившихся тогда короткостебельных сортов пшеницы.

В 1979 г. он оставляет пост заместителя директора ВИР, его назначают заведующим отделом клубнеплодов ВИР. Константин Захарович полностью переключается на работу с картофелем, имея большой задел прежних исследований по этой культуре. Благодаря ему активизируется селекционно-генетическое изучение картофеля, разрабатываются основы селекции на дигиплоидном уровне, в том числе с использованием мейотической полиплоидизации при отдаленной гибридизации. К. З. Будиным вместе с ближайшей помощницей Т. И. Соболевой было создано много сложных межвидовых гибридов с комплексом хозяйственно-ценных признаков, включая продуктивность, желаемую группу спелости, качество клубней, устойчивость к патогенам, особенно к фитофторозу (Будин, 1986). Некоторые из них прошли сортоиспытание: 'Буран', 'Лена', 'Энергия'. Всего же К. З. Будин – автор и соавтор семи сортов картофеля. Он был отмечен многим званием и наградами, в 1972 г. стал академиком ВАСХНИЛ. Его наряду с английским профессором Дж. Хоксом избрали почетным профессором ВИР. К. З. Будин дожил до 90 лет и был, очевидно, последним из могикан выдающихся ученых-картофелеводов ВИР.

В заключение нельзя не упомянуть еще трех известных, к сожалению, уже ушедших от нас вировцев, пожизненно связанных с картофелем. Это М. А. Вавилова, А. Г. Зыкин и Л. Е. Горбатенко. Мария Александровна Вавилова многие годы отдала работе на Полярной опытной станции ВИР. Здесь с ее участием выведен известный сорт 'Хибинский ранний'. Она автор таких сортов, как 'Повировец', 'Белоснежка', 'Заполярный', 'Фантазия' (Вавилова, 1971). Всем, кто ее знал, она запомнилась как очень скромный и преданный своему делу и общей вировской работе человек.

Алексей Георгиевич Зыкин очень много сделал для налаживания образцового первичного семеноводства в ВИР на оздоровленной безвирусной основе. В чем-то его работа в этом направлении была образцом для семеноводов всего Северо-Западного региона страны (Зыкин, 2000). Меньше известна его экспедиционная деятельность. Вместе с тем он побывал во многих странах, в том числе Южной Америки. Особенно ценным было его посещение Чили, где он собрал и описал образец дикорастущего картофеля, родича чилийского *S. tuberosum* L. Образец этот интересен еще и тем, что нечто подобное было описано еще Ч. Дарвином на о. Чилоэ во время кругосветного путешествия на корабле «Бигль». В. С. Лехнович описал этот вид как *S. zykini* Lechn.

Большую работу по ботанической географии южноамериканских видов картофеля и их систематике провела Людмила Ефстафьевна Горбатенко. Она прекрасно знала испанский язык, жила одно время на Кубе, неоднократно бывала в странах южно-американского региона, тесно сотрудничала с Карлосом Очоа. Ею написана и издана уникальная монография «Виды картофеля Южной Америки», вышедшая в 2006 г.

В отделе клубнеплодов в свое время работало много способных, профессионально одаренных, преданных своему делу сотрудников, прекрасных

тружеников и помощников-лаборантов, без которых наши картофельные корифеи вряд ли могли бы стать теми, кем стали. Всем было на кого равняться, в отделе царили воистину творческий дух, дружелюбная атмосфера, обстановка глубокого взаимного уважения. Вспоминая то незабываемое время, хочется думать, что оно не ушло безвозвратно и наука в стране еще возродится. Если у нее было такое прошлое, значит не все утрачено для будущего. Главное – знать, помнить и ценить свою историю.

Литература

- Будин К. З.* Генетические основы селекции. Л., 1986. 192 с.
- Букасов С. М.* Картофели Южной Америки и их селекционное использование (По данным экспедиции Всесоюзного института растениеводства в Центральную и Южную Америку) // Приложение 58 / Тр. по прикл. бот., ген. и сел. Л., 1933. 151 с.
- Букасов С. М., Камераз А. Я.* Селекция картофеля. М.–Л., 1948. 359 с.
- Букасов С. М., Камераз А. Я.* Основы селекции картофеля. М.–Л., 1959. 528 с.
- Букасов С. М., Камераз А. Я.* Селекция и семеноводство картофеля М., 1972. 360 с.
- Вавилова М. А.* Морозостойкие виды картофеля и их использование в межвидовой гибридизации // Тр. по прикл. бот., ген. и сел. 1971. Т. 44. Вып. 1. С. 144–162.
- Веселовский И. А.* Картофель семенами северным, горным и отдаленным районам Союза ССР. Л., 1933. 20 с.
- Горбатенко Л. Е.* Виды картофеля Южной Америки. СПб., 2006. 456 с.
- Зыкин А. Г.* Картофель. СПб., 2000. 192 с.
- Камераз А. Я.* Межвидовая и внутривидовая гибридизация картофеля // В. кн.: Генетика картофеля. М., 1973. С. 104–121.
- Лехнович В. С.* К истории культуры картофеля в России // История земледелия СССР. М.–Л., 1954. С. 258–400.
- Лехнович В. С.* Культурные виды картофеля // В кн.: Культурная флора СССР. Картофель. Т. 9. Л., 1971. С. 41–383.

**МОБИЛИЗАЦИЯ И СОХРАНЕНИЕ
ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ:
ВОЗМОЖНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ
COLLECTING AND CONSERVATION OF PLANT GENETIC DIVERSITY:
POSSIBILITIES AND PROSPECTS**

УДК 634.8

**СОХРАНЕНИЕ ГЕНОФОНДА ВИНОГРАДА
АБОРИГЕННЫХ ДОНСКИХ СОРТОВ**

Л. Г. Наумова, В. А. Ганич

Всероссийский научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия
им. Я. И. Потапенко, Новочеркасск, Россия, e-mail: LGnaumova@yandex.ru

Резюме

В статье обсуждается актуальность сохранения донских аборигенных сортов винограда. Коллекции являются чрезвычайно ценным и мощным источником потенциально полезных генов, необходимых селекционерам для получения более урожайных сортов, способных лучше адаптироваться к условиям окружающей среды. Ампелографические исследования имеют многолетнюю историю, но не теряют своей актуальности и в настоящее время.

Ключевые слова: виноград, ампелографическая коллекция, аборигенные сорта.

**PRESERVING THE GENE POOL OF INDIGENOUS GRAPE VARIETIES
IN THE DON RIVER VALLEY**

L. G. Naumova & V. A. Ganich

Y. A. Potapenko All-Russian Research Institute of Viticulture and Winemaking,
Novocherkassk, Russia, e-mail: LGnaumova@yandex.ru

Summary

The article discusses the urgent need to preserve indigenous grape varieties of the Don River area. Collections are an extremely valuable and powerful source of potentially useful genes required by breeders to produce higher yielding varieties with better adaptability to the environment. Ampelographic studies have a long history, but have not lost their relevance up to the present time.

Keywords: grapes, ampelographic collection, indigenous varieties.

Десятки веков скрывают от нас начало виноградарства на Дону. Археологические находки в пределах Ростовской области говорят о том, что виноградарство и виноделие были известны на Дону еще в I–IV веках нашей эры. Некоторые авторы склонны относить начало виноградарства к VII веку до нашей эры. Но еще Страбон указывал, что виноградники были у входа в Палус-Меотиду, так около 2–2,5 тыс. лет назад называли устье реки Дон (Лукьянов, 1939). Имеются данные, свидетельствующие о культивировании винограда на Дону в период Хазарского каганата – государства, владевшего в IV–VIII веках

Дагестаном, низовьями рек Волга, Терек, Дон, Северский Донец и степными просторами вплоть до современного Харькова (Алиев и др., 2006а).

По мнению ряда современных авторов (Алиев и др., 2006б), о многовековой истории виноградарства на Дону свидетельствуют многообразие и специфичность местных сортов винограда. Многие аборигенные донские сорта винограда представляют значительную ценность не только для возделывания в благоприятных условиях правобережья Дона, но и для использования в селекционной работе.

Незаслуженно приниженный авторитет аборигенных сортов винограда заметно сказывается на их распространении. Аборигены – нераскрытый пласт знаний о потенциальных возможностях промышленного производства и использования в комбинативной и клоновой селекции (Трошин, 2007).

Изучение сортов винограда и организация ампелографических коллекций на Дону имеют свою историю. До 1936 года значительные коллекции сортов винограда были сконцентрированы в южных областях СССР (например, крупнейшая в Советском Союзе Магарачская коллекция на южном берегу Крыма, виноградные коллекции в Анапе и Дербенте). В укрывной зоне было собрано незначительное количество сортов, поэтому и возникла необходимость создания обширного сортового генофонда, который обеспечивал бы развертывание работ по сортоизучению винограда (Лазаревский, 1946). Еще до 1936 г. существовала коллекция, состоявшая, в основном, из донских аборигенных сортов, таких как ‘Пухляковский’, ‘Кумшацкий белый’, ‘Сибирьковский’, ‘Белобуланный’, ‘Брусковатенький’, ‘Буланный’, ‘Варюшкин’, ‘Желудевый’, ‘Ефремовский’, ‘Шампанчик бессергеновский’ и др.

Ампелографическая коллекция Всероссийского научно-исследовательского института виноградарства и виноделия (ВНИИВиВ) им. Я. И. Потапенко расположена в зоне укрывного промышленного виноградарства. С 1959 года по настоящее время шесть аборигенных донских сортов винограда: ‘Варюшкин’, ‘Красностоп золотовский’, ‘Плечистик’, ‘Пухляковский’, ‘Сибирьковский’, ‘Цимлянский черный’ находятся в Государственном реестре сортов винограда, допущенных к использованию в производстве в Российской Федерации.

В связи с распространением филлоксеры, первые очаги которой были обнаружены в Ростовской области в 1971 г., была проведена закладка новой ампелографической коллекции привитыми саженцами в 1983–1985 гг. Существовавшая до этого коллекция была корнесобственной. С переходом на привитую культуру осложнилась работа по сохранению сортов винограда в коллекциях, расположенных в северных промышленных районах виноградарства. Это относится в первую очередь к сортам вида *Vitis vinifera* L., требующим в этой зоне укрытия кустов на зиму.

О большой роли ампелографических коллекций в улучшении сортимента промышленных виноградников свидетельствует многолетний опыт нашей коллекции. За эти годы коллекция постоянно расширялась и неоднократно обновлялась, что было связано с изменениями в схемах закладки промышленных насаждений и формировок кустов, распространением

филлоксеры и переходом на привитую культуру, появлением сортов винограда, позволяющих внедрить неукрывную культуру и т. д. (Наумова, 2011).

В настоящее время в ампелографической коллекции ВНИИВиВ им. Я. И. Потапенко собраны такие высококачественные аборигенные донские сорта винограда, как 'Сибирьковский', 'Кумшацкий белый', 'Цимлянский черный', 'Плечистик', 'Шампанчик цимлянский', 'Красностоп золотовский', 'Варюшкин', 'Пухляковский' и др., которые составляют славу донским винам и известны не только в нашей стране, но и за рубежом.

В Международной конвенции о биоразнообразии 1992 года сказано: «Сохранение разнообразия растительных генетических ресурсов – проблема глобального масштаба. Ответственность за их сохранность ложится на весь мир. Растительное разнообразие сохраняется в мировых коллекциях генетических ресурсов. Эти коллекции являются чрезвычайно ценным и мощным источником потенциально полезных генов, необходимых селекционерам для получения более урожайных сортов, способных лучше адаптироваться к условиям окружающей среды. Следовательно, коллекции генетических ресурсов растений являются страховым полисом дальнейшего благополучия человечества».

Ампелографические исследования имеют многолетнюю историю, но они не теряют своей актуальности и в настоящее время. Известно, что Н. И. Вавилов придавал большое значение мобилизации растительных ресурсов мира как для практического использования, так и для селекционной работы.

В настоящее время продолжают работы по закладке крупной коллекции в одном из регионов неукрывной культуры винограда России – Анапском районе Краснодарского края. Здесь сконцентрировано 3210 образцов винограда, в том числе в привитой культуре – 413, в корнесобственной – 3039. Площадь коллекционного участка составляет 8,2 га (Егоров и др., 2009). Для создания этой коллекции ВНИИВиВ им. Я. И. Потапенко передал черенки около 700 сортов винограда.

Краснодарский край находится в зоне заражения филлоксерой, поэтому гарантией сохранения генофонда считается культура, привитая на филлоксероустойчивых подвоях. Причинами гибели образцов являются: отсутствие поливов в год посадки, повреждение и уничтожение растений при несвоевременном проведении механизированных и ручных работ, массовое развитие бактериального рака. По оценке на 1 января 2008 года хорошее состояние растений отмечено у 45,3%, а плохое – у 20,2%. Сохранение коллекционного генофонда винограда представляет определенную трудность и в связи с различной адаптивной способностью сортов, оказавшихся в иных почвенно-климатических условиях, отличающихся от условий прежнего произрастания (Носульчак и др., 2008).

Основной задачей коллекций является сбор и сохранение генофонда винограда различного эколого-географического происхождения, использование в селекции сортов и форм, выделившихся высокой морозоустойчивостью и зимостойкостью.

Для гарантии сохранения генофонда винограда важно, чтобы сорт был продублирован не менее чем в двух странах. Анализ данных каталога

генетических ресурсов рода *Vitis* (Alleweldt, Dettweiler-Munch, 1992) показал, что более 6 тыс. сортов находятся только в одной коллекции. Это составляет 39,3% общего количества сортов. Если учесть, что в коллекциях зафиксированы 10,5 тыс. сортов (из 15,4 тыс.), то доля сортов, произрастающих в одной коллекции, достигает 62%. Сорта в двух коллекциях составляют 16,7%, в трех – 7,4%. Такое состояние весьма опасно для сохранения генофонда.

Вторым важным моментом является количество растений каждого образца. В СССР существовала практика закладки коллекций из расчета десять растений каждого сорта, что резко повышало сохранность сортов по сравнению с коллекциями, где это число менее пяти. Кроме того, наличие десяти растений позволяет получать вполне объективную оценку по результатам многолетнего изучения.

Селекционеры ВНИИВиВ им. Я. И. Потапенко, АЗОСВиВ, СКЗНИИСиВ, Узбекского НИИСВиВ им. Р. Р. Шредера использовали в своих скрещиваниях аборигенные донские сорта – ‘Пухляковский’, ‘Цимлянский черный’, ‘Плечистик’, ‘Сибирьковский’, ‘Брусковатенький’ – и вывели 34 новых сорта и гибридные формы. Наибольшую известность и распространение получили сорта: ‘Степняк’, ‘Брускам’, ‘Вечерний’, ‘Десертный’, ‘Пухляковский мускатный’, ‘Прима’, ‘Сацимлер’ и др.

В последние годы И. Н. Сьян использовала в межвидовых скрещиваниях сорт ‘Цимлянский черный’, в результате было выделено шесть перспективных красных технических форм: ‘Астория’, ‘Вечерний’, ‘Нижнедонской’, ‘Цилиндрический’, ‘Цимлянский ранний’, ‘Шагреньевый’.

Плодотворное сотрудничество ампелографов и биотехнологов нашего института приносит свои плоды. Так, на грани исчезновения в коллекции были такие аборигенные донские сорта, как ‘Крестовский’, ‘Кумшацкий белый’, ‘Кабашный’, ‘Сыпун черный’, ‘Цимлянский белый’ и др., которые в настоящее время сохранены в культуре *in vitro*. Выявлено, что адаптационные способности к условиям *in vitro* и адаптация к нестерильным условиям *post vitro* у изучаемых сортов существенно различаются (Дорошенко и др., 2011; Ребров и др., 2014).

В связи с вступлением России в ВТО, в традиционно виноградарских районах Ростовской области возникла необходимость использовать при закладке новых насаждений ценные аборигенные донские сорта винограда. С использованием этих сортов связана возможность производства высококачественных и уникальных вин, прославивших виноградарство и виноделие Дона (Алиев и др., 2005).

Не все аборигенные донские сорта равноценны по качеству продукции. Однако трудно себе представить лучшие вина России без высококачественных белых донских вин из сортов ‘Сибирьковский’, ‘Кумшацкий’, ‘Пухляковский’ и особенно без известных всему миру красных вин высочайшего качества из сортов ‘Красностоп золотовский’, ‘Цимлянский черный’, ‘Плечистик’ и др.

Сорт является одним из основных факторов увеличения урожайности и играет главную роль в повышении качества вина. В связи с этим подбор сортов, высокорентабельных для той или иной экологической зоны, имеет актуальное значение. Нам в России не надо искать какие-то особенные сорта – они у нас

есть. Аборигенных сортов не так много, использование их перспективно для развития виноградников Дона.

Мы, как и наши коллеги В. А. Носульчак, А. С. Смурыгин и Л. П. Трошин разделяем «... мнение академика Н. И. Вавилова – *лучше проявить чрезмерную бережливость в настоящее время, чем подвергнуть уничтожению то, что тысячами лет создавалось природой*. Мы обязаны сохранить генофонд винограда, собранный и созданный в XX веке старшими поколениями ампелографов и виноградарей» (Носульчак и др., 2008. С. 60).

Литература

- Алиев А. М., Кравченко Л. В., Наумова Л. Г. Происхождение донских сортов винограда // Виноделие и виноградарство. 2005. № 3. С. 36–37.
- Алиев А. М., Кравченко Л. В., Наумова Л. Г. и др. Ампелографическая коллекция ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия им. Я. И. Потапенко Россельхозакадемии. Новочеркасск, 2006а. 57 с.
- Алиев А. М., Кравченко Л. В., Наумова Л. Г. и др. Донские аборигенные сорта винограда. Новочеркасск, 2006б. 84 с.
- Дорошенко Н. П., Куприкова А. С. Биотехнология оздоровления и сохранения донских аборигенных сортов винограда // Генетические ресурсы и селекционное обеспечение современного виноградарства: матер. межд. науч.-практ. конф. Новочеркасск, 2011. С. 156–160.
- Лазаревский М. А. Перспективные для Дона и Поволжья сорта винограда // Виноделие и виноградарство СССР. 1946. № 5. С. 29–32.
- Лукьянов А. Д. Виноградарство на Дону // Донское виноградарство. Ростов-на-Дону, 1939. С. 5–47.
- Наумова Л. Г. Из истории ампелографической коллекции // Виноделие и виноградарство. 2011. № 3. С. 37–39.
- Егоров Е. А., Ильяшенко О. М., Коваленко А. Г. и др. Анапская ампелографическая коллекция. Краснодар, 2009. 215 с.
- Международная конвенция о биоразнообразии. Рио-де-Жанейро, 3–14 июня 1992 года
- Носульчак В. А., Смурыгин А. С., Трошин Л. П. Интродукция генофонда винограда и проблемы его сохранения // Мобилизация и сохранение генетических ресурсов винограда, совершенствование методов селекционного процесса: матер. науч.-практ. конф. Новочеркасск, 2008. С. 55–61.
- Ребров А. Н., Ильницкая Е. Т. Адаптация донских аборигенных сортов винограда к нестерильным условиям *post vitro* // Научное наследие Я. И. Потапенко – основа современной науки о винограде и вине: матер. межд. науч.-практ. конф. Новочеркасск, 2014. С. 94–200.
- Трошин Л. П. Аборигенные сорта винограда России. Краснодар, 2007. 256 с.
- Alleweldt G., Dettweiler-Munch E. The genetic resources of Vitis. Siebeldingen, 1992. 590 s.

УДК:631.526.3:631.527 (476)

ГОСУДАРСТВЕННАЯ ПРОГРАММА «ГЕНОФОНД» – ОСНОВА ФОРМИРОВАНИЯ НАЦИОНАЛЬНОГО БАНКА ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ БЕЛАРУСИ

Ф. И. Привалов, С. И. Гриб, И. С. Матыс

Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию,
г. Жодино, Республика Беларусь, e-mail: belgenbank@mail.ru

Резюме

Освещены основные этапы реализации Государственной программы «Генофонд» по формированию Национального банка генетических ресурсов растений Беларуси. Представлен генетический фонд, собранный в научно-исследовательских учреждениях, участвующих в работе по изучению и сохранению генетических ресурсов растений в республике. Показаны результаты практического использования мирового генофонда культурных растений в селекции.

Ключевые слова: генофонд культурных растений, селекционный процесс, коллекции.

NATIONAL GENETIC DIVERSITY PROGRAMME AS THE BASIS FOR THE DEVELOPMENT OF THE NATIONAL GENE BANK OF PLANT GENETIC RESOURCES IN THE REPUBLIC OF BELARUS

F. I. Pryvalau, S. I. Grib & I. S. Matys

Research and Practical Centre of the NAS of Belarus for Arable Farming,
Zhodino, Republic of Belarus, e-mail: belgenbank@mail.ru

Summary

The main milestones of plant genetic resources research activities in Belarus are presented in the article. The genetic diversity collected and held by research institutions participating in plant genetic resources research and conservation efforts in Belarus is described. The results of practical utilization of the global crop diversity in breeding practice are shown.

Keywords: crop genetic diversity, breeding process, collections.

Введение

Генетические ресурсы культурных растений и их диких родичей являются одним из важнейших компонентов растительного биологического разнообразия (биоразнообразия), так как имеют фактическую или потенциальную ценность для производства продуктов питания, устойчивого развития экологически безопасного сельского хозяйства, создания сырья для промышленности (Привалов и др., 2013). Именно поэтому проблема сбора, сохранения, изучения и рационального использования генетических ресурсов культурных растений и их диких родичей в Республике Беларусь является

государственной, стратегически важной и непосредственно связана с обеспечением как национальной, так и глобальной продовольственной, биоресурсной и экологической безопасности (Гриб, 1996).

Государственная программа «Генофонд» разработана в соответствии с поручением Президента Республики Беларусь А. Г. Лукашенко (Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 30.12.1999 г. № 2063) и стала основой для мобилизации и сохранения генетических ресурсов растений в Республике Беларусь. Она предназначена для научного обеспечения мероприятий по сохранению и рациональному использованию отечественных и мировых растительных ресурсов, направлена на создание, систематизацию, поддержание и анализ растительных ресурсов в целях их использования в народном хозяйстве. На первом этапе (2000–2005 гг.) была проведена инвентаризация и первичное описание материала, накопленного в рабочих коллекциях организаций-исполнителей программы. Крупные и значимые рабочие коллекции научно-исследовательских учреждений Национальной академии наук Беларуси (НАН Беларуси) стали основой коллекции Национального генофонда, формирование которой было завершено на втором этапе (2005–2010 гг.). Основной целью программы на современном этапе (2011–2015 гг.) определено создание национального банка генетических ресурсов растений сельскохозяйственных культур и природной флоры Беларуси, разработка научных основ формирования и ведения национального банка генетических ресурсов растений для выведения новых сортов и гибридов сельскохозяйственных культур, сохранение и обогащение культурной и природной флоры Беларуси, обеспечение развития фундаментальной и прикладной науки, образования, сельского хозяйства в Республике Беларусь. В настоящее время в выполнении Государственной программы «Генофонд» участвуют 11 научно-исследовательских учреждений Национальной академии наук Беларуси и два вуза (Привалов и др., 2014). Программа нацелена на пополнение, сохранение, изучение и мобилизацию генетических ресурсов хозяйственно полезных растений в целях обогащения и расширения исходного материала для селекции и других целей.

Возглавляет эту работу в республике РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию», в котором построено хранилище Национального генетического фонда, имеющее условия для надежного длительного хранения генетических коллекций хозяйственно полезных растений. Для хранения дублетной коллекции используется хранилище Белорусской государственной сельскохозяйственной академии (БГСХА, г. Горки, Могилевская область). Основные коллекции вегетативно размножаемых культур сосредоточены в Научно-практический центр (НПЦ) по картофелеводству и плодоовощеводству (г. Самохваловичи, Минский район). Поддержание коллекционного фонда здесь осуществляется как биотехнологическими методами – в культуре *in vitro*, так и в полевых коллекциях. Длительное хранение генетического фонда ценных лесных пород деревьев осуществляется в Институте леса (г. Гомель), где функционирует

долгосрочное хранилище семян лесных пород. Налажен мониторинг за состоянием семенного материала в регулируемых условиях хранения, проводится проверка его жизнеспособности. Богатые коллекции декоративных культур созданы в Центральном ботаническом саду (г. Минск) и ботаническом саду БГСХА (г. Горки).

Результаты исследований и их обсуждение

В результате выполнения заданий Государственной программы «Генофонд» за 2000–2014 гг. в республике сформирован генетический фонд растений, который разнообразен по своему содержанию. Объем национального генофонда ресурсов растений после проведенной инвентаризации коллекций в 2005 г. составлял 20,0 тыс., к 2010 г. он увеличился до 25,0 тыс., в 2014 году эта цифра достигла 41,9 тыс. коллекционных образцов. Из них 14 282 образца – полевые культуры, принадлежащие к 195 видам (рис. 1). Национальный банк генетических ресурсов растений Беларуси занимает четвертое место по количеству коллекционных образцов среди стран СНГ, а по видовому разнообразию находится на третьем месте и насчитывает 1695 видов культурных растений и их родичей.

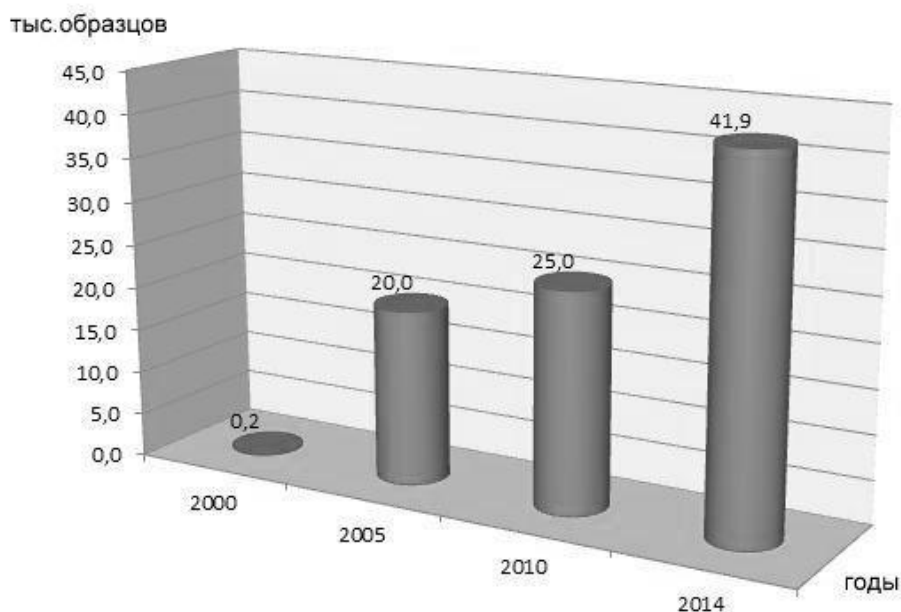


Рис. 1. Динамика роста фонда генетических ресурсов культурных растений и их диких родичей (Беларусь, 2000–2014 гг.)

На основе генетических ресурсов за период с 2000 по 2014 г. в Республике Беларусь создано 580 сортов, из них 228 сортов – полевых культур.

Генофонд РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию» представлен семенными коллекциями генетических растений зерновых, зернобобовых, крупяных, масличных и кормовых культур и насчитывает 10 165 коллекционных образцов различного эколого-географического происхождения. Число образцов увеличивается ежегодно на 1000 и более (таблица).

**Состав национального генофонда ресурсов растений
Республики Беларусь, 2014 г.**

Учреждение, группы культур	Количество образцов, всего
НПЦ НАН Беларуси по земледелию (зерновые, зернобобовые, зернокормовые, крупяные, масличные, кормовые)	10 165
НПЦ НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству (сорта мирового генофонда картофеля в клубнях, базисная коллекция сортов картофеля в условиях <i>in vitro</i> , дигаплоиды, дикие и культурные виды картофеля в клубнях, виды и межвидовые гибриды <i>Solanum</i> в культуре <i>in vitro</i>)	1871
Институт плодоводства НАН Беларуси (плодовые, ягодные, орехоплодные культуры, виноград)	4897
Институт овощеводства НАН Беларуси (однолетние, двулетние, многолетние овощные культуры)	3496
Полесский институт растениеводства (зерновые, зернобобовые, зернокормовые, масличные, кормовые)	502
Опытная станция по сахарной свекле НАН Беларуси	203
Институт льна НАН Беларуси (лен-долгунец, лен масличный)	680
Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси	752
Институт генетики и цитологии НАН Беларуси	392
Центральный ботанический сад НАН Беларуси	12 195
Институт леса НАН Беларуси, коллекционные культуры	1425
Белорусский государственный университет	673
Белорусская государственная сельскохозяйственная академия	4540
ИТОГО	41 791

Сохранение семян в условиях *ex situ* позволяет продлить период жизнеспособности семенного материала до 20 лет, повышает надежность их сохранения и снижает затраты на репродуцирование образцов.

Сохранение коллекции семян в этих условиях позволило обеспечить:

- сосредоточенность растительного разнообразия как исходного материала для селекции в одном месте в искусственно контролируемых условиях;
- относительную безопасность и гарантию сохранения;
- оперативную доступность для пользователя;
- возможность последовательного и целенаправленного изучения и ускоренного использования в селекции;
- централизованное управление, возможность системной обработки данных, создание единой БД;
- организацию постоянного учета и контроля за движением коллекционных фондов.

По состоянию на 01. 01. 2014 коллекции семян генетических ресурсов растений насчитывают 10 087 образцов из 73 стран мира по 20 культурам: зерновые – 4832 оригинальных образца (пшеница – 2477, рожь – 131, тритикале – 675, ячмень – 868, овес – 681); зернобобовые – 2154 (горох – 822, вика – 168, люпин – 690, соя – 180, бобы кормовые – 294); крупяные – 404 (гречиха – 179, просо и просовидные культуры – 225); масличные – 720 (рапс – 597, другие крестоцветные масличные культуры – 123); кормовые – 1394 (свекла – 53, многолетние бобовые – 397, злаковые травы – 944); свекла сахарная – 97 и лен – 311 образцов; овощные культуры – 71; лекарственные и пряноароматические – 104 образца.

С 2000 по 2013 годы коллекции послужили исходным материалом для создания 130 новых сортов зерновых, зернобобовых, крупяных, масличных, кормовых культур. 82 сорта белорусской селекции районированы за пределами Республики Беларусь и занимают более 2 млн. га. Только за 2013 год с использованием генофонда создано и передано в Госсортоиспытание (ГСИ) 20 сортов РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию». Площадь внедряемых сортов и гибридов в 2013 г. по республике составила 2236,2 тыс. га, а удельный вес сортов РУП в посевах сельскохозяйственных культур Республики Беларусь составил около 80% (рис. 2).

Сформированы 23 рабочие коллекции по зерновым, зернобобовым, крупяным, масличным и кормовым культурам. Рабочие коллекции по 17 яровым и 6 озимым культурам проходят изучение согласно принятым методикам. В процессе изучения коллекционных образцов зерновых, зернобобовых культур выделены источники ценных признаков, которые могут быть использованы в селекции для создания новых сортов и гибридов (Матыс и др., 2014).

Сформированы целевые признаковые, генетические, стержневые и учебные коллекции по наиболее значимым в экономическом отношении полевым сельскохозяйственным культурам. Ценные по качеству сорта яровой пшеницы ‘Дарья’ и ‘Сударыня’, ячменя – ‘Зазерский 85’, ‘Гонар’, ‘Атаман’, ярового рапса – ‘Неман’, озимого рапса – ‘Лидер’ и ‘Зорны’ и другие получили широкое распространение в Нечерноземной зоне и Центрально-Черноземном регионе России.

Работу по изучению коллекции сахарной свеклы в Беларуси ведет опытная станция по сахарной свекле. Генофонд насчитывает 203 коллекционных образца. Анализ 22 коллекционных образцов на устойчивость индивидуальных растений сахарной свеклы к *Cercospora beticola* Sacc. позволил выделить высокоустойчивые образцы. Сформированы генетическая и стержневая коллекции сахарной свеклы. На основе коллекций генофонда в 2013 году передан в ГСИ один гибрид сахарной свеклы, включен в перечень перспективных один гибрид, находятся в ГСИ три гибрида сахарной свеклы.

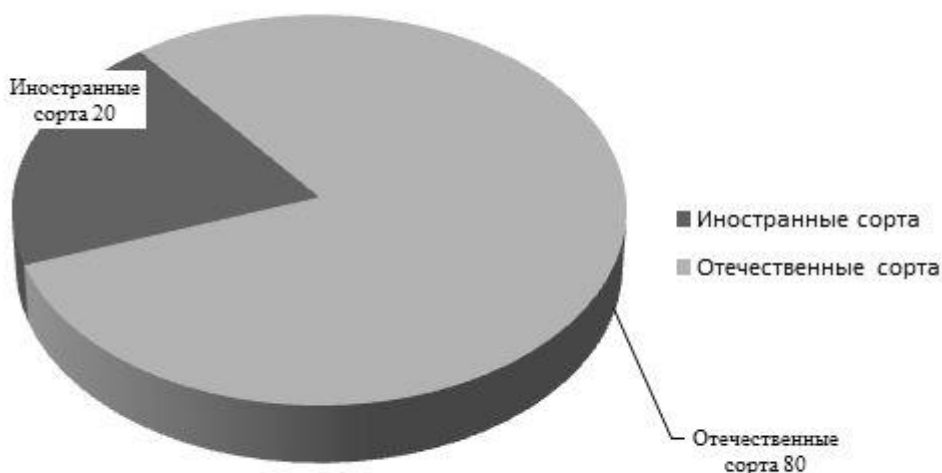


Рис. 2. Удельный вес сортов РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию» в посевах сельскохозяйственных культур Республики Беларусь

Коллекции кукурузы, кормовых культур и подсолнечника Полесского института растениеводства насчитывают 502 коллекционных образца, которые только за 2013 годполнились 57 новыми образцами мировой и отечественной селекции. Коллекционный материал активно используется для создания сортов и гибридов с комплексом хозяйственно полезных признаков. На основе коллекционного материала создано и передано в 2013 году в ГСИ два гибрида кукурузы: ‘Полесский 109’ и ‘Полесский 111’. В Государственный Реестр сортов Республики Беларусь включены шесть гибридов кукурузы универсального типа: ‘Белиз’ (2003 г.), ‘Полесский 212 СВ’ (2004 г.), ‘Полесский 195 СВ’ (2007 г.), ‘Полесский 175 СВ’ (2012 г.); зернового типа: ‘Полесский 101 СВ’ (2012 г.), ‘Полесский 103’ (2012 г.). В ГСИ в 2011–2012 гг. переданы на испытание гибриды кукурузы: ‘Бемо 130’, ‘Полесский 185 СВ’, ‘Полесский 105’, ‘Полесский 107’ и ‘Полесский 202’.

В Институте льна коллекция представлена двумя видами: лен-долгунец и лен масличный. Генофонд насчитывает 731 коллекционный образец различного

эколого-географического происхождения, на его основе созданы целевые признаковые коллекции льна. Выделены и включены в последующие этапы селекционного процесса гибридные комбинации льна-долгунца, высокие показатели которых по признаку *содержание волокна (%)* обусловлены положительными эффектами ОКС одного или обоих родительских сортов ('Rina' × 'Ярок', 'Rina' × 'Ива', 'Venica' × 'Ярок', 'Табор' × 'Ярок', 'Табор' × 'Заказ'). С учетом комплексной оценки (средней характеристики признаков сортов, их комбинационной способности) выделены в качестве доноров: по основному показателю продуктивности волокна – *содержание волокна (%)* – сорта 'Ярок', 'Табор', 'Rina'; по косвенному показателю качества волокна – *мылкость* – сорта 'Venica', 'Ива'. Наибольшей ценностью обладают сорта и линии льна-долгунца собственной селекции, адаптированные к местным условиям. Эффективными в качестве родительских форм оказались: 'Оршанский 2', 'Призыв 81', 'Ника', 'Могилевский', К-65, 'Вита', М-8, а также зарубежные – 'Вперед', К-6, Т-10, Т-18, Т-17, 'Aoyagi', 'Fibra', 'Лаура'. С их участием созданы высокопродуктивные сорта, включенные в Государственный реестр Республики Беларусь – 'Блакит', 'Василек', 'Форт', 'Ярок', 'Ива', 'Левит 1', 'Велич', 'Веста', 'Ласка', 'Грант'. Созданы и включены в Госреестр сорта льна масличного: 'Брестский', 'Илим', 'Опус', 'Салют'.

Признаковая коллекция люпина УО «Белорусский государственный университет» (БГУ) насчитывает 673 коллекционных образца. Видовое разнообразие представлено 22 видами люпина, включает образцы разные по морфотипу растений, качественным и количественным признакам, биохимическим характеристикам, полученным с использованием молекулярно-генетического маркирования. В признаковой коллекции люпина узколистного выявлены образцы, содержащие ген антракнозоустойчивости и образцы люпина белого, геномы которых содержат рецессивные гены алкалоидности. Получен патент Российской Федерации на новый сорт люпина узколистного 'Фазан', созданный совместно с Московским НИИСХ «Немчиновка», РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева и БГУ.

Генофонд хозяйственно полезных растений УО «БГСХА» насчитывает 4540 образцов, в т. ч. зерновых и крупяных культур – 1191, масличных – 149, кормовых трав – 94, плодово-ягодных культур – 265, древесно-кустарниковых растений – 462, цветочно-декоративных и оранжерейных растений – 1885, лекарственных – 95.

Создание и изучение генетических коллекций – наиболее эффективный путь сохранения и расширения генетического разнообразия, предотвращения генетической эрозии генофонда культурных растений и рационального использования его в практической селекции. В Институте генетики и цитологии НАН Беларуси создается специализированная генетическая коллекция зерновых, технических, масличных культур и картофеля. С целью рационального использования генетической коллекции проводятся молекулярно-генетические исследования образцов коллекции с применением традиционных методов и ПЦР-генотипирования.

Генофонд картофеля представлен тремя типами коллекций, важнейшая из них – коллекция, обеспечивающая поддержание белорусского сортимента картофеля в здоровом виде в культуре *in vitro* с периодическим обновлением через полевые клубни, с привлечением методов молекулярной паспортизации для гарантии сохранности сорта и регулярных скринингов на отсутствие патогенов инструментальными методами (ИФА, ПЦР). В культуре *in vitro* поддерживается коллекция видов и межвидовых гибридов *Solanum L.*, насчитывающая более 400 индивидуальных номеров, включенных в каталог генофонда картофеля. Коллекции картофеля активно используют в селекции и семеноводстве республики. На основе генофонда создано 15 сортов, в том числе в 2013 г. передан в ГСИ сорт картофеля ‘Богач’.

Коллекция РУП «Институт плодоводства» насчитывает 4897 образцов и относится к числу крупнейших в Европе среди имеющихся в научных организациях, включает в себя самый северный в Европе фонд ореха грецкого и винограда, по составу культур она не имеет аналогов. Коллекционные фонды сохраняются в живом виде. Ежегодно проводятся экспедиционные обследования районов и областей республики по сбору староместных сортов. С использованием данных генофондов селекционерами создано более 250 сортов плодовых и ягодных культур, в том числе в 2013 г. передано в ГСИ десять сортов плодовых и ягодных культур (Привалов и др., 2012).

РУП «Институт овощеводства» в рамках выполнения программы создан генетический фонд, состоящий из 30 видов овощных культур. Генофонд овощных культур насчитывает 3496 образцов различного эколого-географического происхождения из России, стран ЕС, Украины, Беларуси, США, Австралии, Израиля, Китая и других и включает 3066 образцов однолетних, 404 – двулетних, 25 – многолетних культур. На основе генофонда создано 46 сортов и гибридов, в том числе в 2013 г. в ГСИ передано девять сортов и гибридов.

Работа по сохранению генофонда и мобилизации ресурсов природной флоры Республики Беларусь проводится в Институте экспериментальной ботаники НАН Беларуси. Изучено состояние природных популяций и сформирована коллекция генетического материала диких родичей культурных растений, приоритетных в хозяйственном отношении. Сформированы гербарные коллекции. Коллекция семян генетических ресурсов диких родичей и природных популяций хозяйственно полезных растений насчитывает 752 коллекционных образца и не имеет аналогов в мире. Экспедиции, проводимые с целью оценки состояния природных популяций и сбора коллекционных образцов, позволили выделить ценные образцы, которые могут являться источниками и донорами для селекционной работы. Среди исследуемых видов 32 (48,5%) на территории Беларуси встречаются изредка, редко и очень редко, причем 14 из них включены в «Красную книгу Республики Беларусь».

Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ЦБС) содержит уникальный для страны генофонд интродуцированных хозяйственно полезных растений, а также – редких и исчезающих растений природной флоры

Беларуси, насчитывающий более 12 тысяч наименований. Коллекции ЦБС включают: гербарий, коллекции *in vitro*, коллекции *ex situ*. Ежегодно активно пополняются коллекционные фонды живых растений Центрального ботанического сада. Банк меристемных культур насчитывает более 130 таксонов. В Государственный реестр сортов и древесно-кустарниковых пород Республики Беларусь включены 124 сорта как интродуцированных, так и собственной селекции, относящихся к 27 видам растений, допущенных для производства в республике.

Одной из центральных проблем селекции и генетики лесных пород в Беларуси является изучение, сохранение и воспроизводство генетических ресурсов основных лесообразующих пород. Осуществлен анализ материалов по лесному фонду Республики Беларусь. Проведено геногеографическое картирование естественных сосновых и еловых насаждений. Разработаны предварительные геногеографические карты сосны обыкновенной и ели европейской.

Выполнение заданий Государственной программы «Генофонд» способствует активному расширению международных связей с ведущими селекционными центрами и генетическими банками в области сбора, сохранения, изучения и использования генетических ресурсов растений. В 2005 г. налажены контакты с Международным институтом генетических ресурсов растений (International plant genetic resources institute, IPGRI, Рим, Италия). С 2008 г. обеспечено участие Республики Беларусь в Европейской кооперативной программе по генетическим ресурсам растений (ЕСPGR), в рамках которой принято участие в создании Европейского каталога генетических ресурсов растений (EURISCO). В 2009 г. в РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию» по договору с Всероссийским научно-исследовательским институтом растениеводства им. Н. И. Вавилова (ВИР) восстановлен Белорусский опорный пункт ВИР. Изучено 2277 коллекционных образцов по десяти культурам различного эколого-географического происхождения из мировой коллекции ВИР, проведена их комплексная полевая оценка в почвенно-климатических условиях Беларуси, что позволило выделить потенциальные источники хозяйственно-ценных признаков, которые рекомендованы для использования в селекционном процессе Беларуси и России. В рамках Кооперативной Программы 7 (FP 7) в 2011 г. подписан Меморандум о взаимопонимании (MoU), о вступлении Республики Беларусь в Интегрированную систему банков генов Европы «AEGIS». Впервые в 2012 г. коллекционные образцы пшеницы и ячменя белорусского происхождения переданы в Арктический Генный банк (Svalbard Global Seed Vault). В 2014 г. подписано соглашение между BI (Bioversity International) и НАН Беларуси по сотрудничеству в области генетических ресурсов растений в Европейской программе (ЕСPGR, Phase IX). Создана и ежегодно пополняется новыми данными единая электронная база данных по накопленному коллекционному фонду.

Заклучение

Таким образом, принятая в 2000 г. Государственная программа «Генофонд» обеспечила развитие исследований генетических ресурсов растений в Республике Беларусь, позволила разработать единую государственную систему сбора, систематизации, хранения и использования генофонда сельскохозяйственных, лесных и лекарственных культур. Проведенная работа по изучению и идентификации, созданию информационного банка данных и национальных каталогов генетических ресурсов хозяйственно полезных растений позволила целенаправленно использовать генофонд растительных ресурсов в проектах и программах научно-исследовательских работ. Республика стала членом ECPGR и AEGIS, налажен обмен генофондом с зарубежными генбанками и международными научными центрами. В 2009 г. возобновил работу Белорусский опорный пункт ВИР, где проводится изучение образцов мировой коллекции в почвенно-климатических условиях Беларуси. На основе использования генетических ресурсов культурных растений в Республике Беларусь за период 2000–2014 гг. создано 580 сортов. В результате выполнения программы создан национальный банк генетических ресурсов растений, насчитывающий 41,9 тыс. образцов. Семенные коллекции зерновых, зернобобовых, крупяных, кормовых, масличных культур, сахарной свеклы и льна РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по земледелию», плодовых, ягодных, орехоплодных культур и винограда РУП «Института плодводства», коллекции штаммов грибов Института леса, гербарий Института экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича Национальной академии наук, живые коллекции и гербарий интродуцированных растений мировой флоры Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси признаны научными объектами национального достояния.

Литература

- Гриб С. И., Привалов Ф. И., Матыс И. С.* Формирование и использование национального фонда генетических ресурсов растений в Беларуси // Материалы «Международной конференции по биологии и биотехнологии растений». Алматы, 2014. С. 273.
- Каталог Национального генетического фонда хозяйственно полезных растений.* Кн. 1 / Национальная академия наук Беларуси, РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию». Минск, 2012. 567 с.
- Каталог Национального генетического фонда хозяйственно полезных растений.* Кн. 2 / Национальная академия наук Беларуси, РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию». Минск, 2012. 439 с.
- Матыс И. С., Гриб С. И., Привалов Ф. И.* и др. Каталог источников селекционно-ценных признаков сельскохозяйственных культур // РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию». Жодино, 2014. 72 с.
- Грыб С. І.* Праблема генафонду раслінных рэсурсаў // Вес. Нац. навук Беларусі. Сер. Біял. Навук. 1996. № 1. С. 56–59
- Privalov F. I., Grib S. I., Matys I. S.* The Crop Genebank in the Republic of Belarus / Russian journal of genetics: applied research 2013. V. 3 № 1. С. 12–16.

УДК 582.5/.9+633/635:581.9(571+620)

**МОБИЛИЗАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ
ДИКИХ РОДИЧЕЙ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ
ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА РОССИИ И СЕВЕРО-ВОСТОЧНОГО КИТАЯ
(ПО МАТЕРИАЛАМ ЭКСПЕДИЦИЙ ДВОС ВИР 2001–2013 ГГ.)**

А. Ш. Сабитов¹, П. А. Чебукин¹, Ц. Чжан², М. О. Бурляева³

¹ Дальневосточная опытная станция ВИР (ДВОС),

г. Владивосток, Россия, e-mail: andrsabitov@rambler.ru

² Хэйлунцзянский центр по научно-техническому сотрудничеству в области сельского хозяйства между Россией и Китаем, г. Харбин, КНР, e-mail: zjm312@yahoo.com.cn

³ Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: m.burlyaeva@vir.nw.ru

Резюме

В статье обобщены данные по результатам экспедиций Дальневосточной опытной станции ВИР, проведенных по территориям Дальнего Востока России и северо-восточного Китая за период с 2001 по 2013 гг. Приведены карты маршрутов экспедиций. В результате экспедиционных обследований для некоторых видов были уточнены ареалы, интродуцированы новые виды растений, собраны уникальные коллекции плодово-ягодных, овощных и полевых культур. В коллекцию ВИР привлечены 1033 образца 74 видов культурных и дикорастущих видов растений.

Ключевые слова: экспедиция, дикие родичи культурных растений, *Ribes*, *Lonicera*, *Actinidia*, *Fragaria*, *Vaccinium*, *Rubus*, *Phaseolus*, *Glycine*, *Lathyrus*, *Vicia*, *Vigna*.

**COLLECTING GENETIC BIODIVERSITY OF CROP WILD RELATIVES
IN THE RUSSIAN FAR EAST AND NORTH-EAST CHINA
(MATERIALS OF FEES/VIR MISSIONS FROM 2001 TO 2013)**

A. S. Sabitov¹, P. A. Chebukin¹, J. Zhang² & M. O. Burlyaeva³

¹ Far East Experiment Station of VIR, Vladivostok, Russia,
e-mail: chebukin@rambler.ru

² Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Sino-Russian Agricultural Scientific and Technological Cooperation Center, China, e-mail: zjm312@yahoo.com.cn

³ N. I. Vavilov All-Russian Research Institute of Plant Industry,
St. Petersburg, Russia, e-mail: m.burlyaeva@vir.nw.ru

Summary

The article summarizes the results of the collecting missions carried out by the Far East Experiment Station (VIR) across the territory of the Russian Far East and the North-East of China from 2001 to 2013. The maps of exploration routes are shown. As a result of explorations, the areas of some species were updated, new plant species were introduced, and unique collections of fruit and berry plants, vegetables and field crops were developed.

All in all, 1033 accessions of 74 cultivated and wild plant species were added to the collection of VIR.

Keywords: collecting mission, crop wild relatives, *Ribes*, *Lonicera*, *Actinidia*, *Fragaria*, *Vaccinium*, *Rubus*, *Phaseolus*, *Glycine*, *Lathyrus*, *Vicia*, *Vigna*.

Введение

На Дальнем Востоке России и в Северо-Восточном Китае сосредоточено огромное разнообразие диких родичей культурных растений (ДРКР). Анализ природной флоры данных территорий показывает, что она может служить ценным источником кормовых, плодовых, технических, декоративных и лекарственных растений. Только на Дальнем Востоке произрастает около 120 видов дикорастущих ягодных и 1000 видов лекарственных растений (Тагильцев и др., 2004). Этот регион является колыбелью таких культур, как жимолость, актинидия, лимонник и другие, и их развитие в России связано в первую очередь с Дальним Востоком. Практически все сорта плодово-ягодных культур Приморского, Хабаровского краев и Амурской области созданы с участием дальневосточных видов.

Следует отметить, что в настоящее время человеком используется только ничтожная часть потенциала растительных ресурсов, произрастающих в Северо-Восточной и Восточной Азии, несмотря на то, что многие виды дикорастущих пищевых растений превосходят по питательным и вкусовым качествам культурные. Введение их в культуру и в селекционные работы может значительно увеличить число дикорастущих растений, используемых человеком. Особенно это важно для северных районов Дальнего Востока, где сельскохозяйственные культуры не выращиваются из-за суровых климатических условий.

Сбор и изучение генетических ресурсов культурных растений и их диких родичей во флоре Дальнего Востока сотрудниками Дальневосточной опытной станции Всероссийского научно-исследовательского института растениеводства им. Н. И. Вавилова (ДВОС ВИР) проводится в течение 85 лет. Благодаря экспедиционным исследованиям растительных ресурсов восточных частей России Н. М. Бочкарниковой, В. П. Царенко, Н. Н. Денисова, А. Ш. Сабитова, П. А. Чебукина и других были описаны новые таксоны, интродуцированы новые виды растений, собраны уникальные коллекции плодово-ягодных, овощных и полевых культур, созданы сорта смородины, жимолости, микровишни войлочной, актинидии, винограда, лимонника и др.

Планомерная мобилизация ДРКР является одной из приоритетных задач ДВОС ВИР и в последнее десятилетие. Сотрудники станции ежегодно участвуют в экспедициях, во время которых исследуют растительное разнообразие флоры Дальнего Востока, проводят поиск местных культурных и диких форм растений, изучают биологические и экологические особенности собранного материала. Маршруты экспедиций составляются так, чтобы охватить разные территории, обследуются как районы, несущие антропогенную нагрузку, с сельскохозяйственными угодьями, так и неосвоенные людьми

труднопроходимые отдаленные участки тайги, тундры, гор и морских побережий. Необходимость таких исследований важна не только для выявления новых ценных источников растительных ресурсов, но и для решения спорных вопросов систематики культурных растений и их родичей, для поиска до сих пор существующих так называемых «видов-призраков» (*Ribes ussuriense* Jancz., *Actinidia giraldii* Diels и др.), описанных по гербарным образцам. В природе эти виды до настоящего времени не найдены. Для решения этих задач необходимо детальное исследование как можно большего количества образцов со всего ареала.

Результаты экспедиций

В период 2001–2013 гг. было продолжено обследование Восточноазиатского региона с целью привлечения в коллекции как уже используемых, так и новых, ранее не изучаемых нами видов растений (Чебукин и др., 2003; Hammer et al., 2003; Honda et al., 2006). Были охвачены неисследованные в прошлом и труднодоступные территории северо-востока Китая, Сахалинской, Камчатской областей и Хабаровского края (табл. 1).

В июне 2001 г. по приглашению Northeast Agricultural University (NEAU – Северо-восточный сельскохозяйственный университет)¹ была проведена совместная российско-китайская экспедиция по сбору дикорастущих образцов жимолости в северо-восточных провинциях Китая (Хэйлунцзян и Гирин). Протяженность маршрута составила 1500 км. Основные сборы были осуществлены в провинции Хэйлунцзян, в 30 км от п. Ябули по трассе Харбин – Суйфунхэ, в 30 км от п. Уян и в провинции Гирин в 20 км восточнее г. Ванцин (рис. 1).

В августе 2001 года сотрудники ДВОС участвовали в совместной российско-американской экспедиции по исследованию дикорастущих плодово-ягодных растений, произрастающих на территории Приморского и Хабаровского краев. Работа была проведена по гранту министерства сельского хозяйства США (USDA) совместно с сотрудниками Национального хранилища клоновой гермоплазмы (National Clonal Germplasm Repository) из г. Корваллиса (штат Орегон, США) и опытной станции Рутгерского государственного исследовательского университета [The Philip E. Marucci Center for Blueberry and Cranberry Research and Extension is a substation of the New Jersey Agricultural Experiment Station (NJAES) of Rutgers University], штат Нью-Джерси (США)². Маршрут экспедиции представлен в таблице 1 и на рисунке 1, его протяженность составила 3000 км. Основное внимание было уделено поискам и сбору *Vaccinium uliginosum* L. и *Oxycoccus palustris* Pers. В ходе экспедиции было собрано 95 образцов ДРКР.

С 5 по 26 августа 2002 г. были исследованы Верхнебуреинский район и район имени Полины Осипенко Хабаровского края, а также Буреинский и

¹ Экспедиция проведена при финансовой поддержке Northeast Agricultural University, КНР.

² Экспедиция была поддержана грантом USDA, National Clonal Germplasm Repository, США.

Селемджинский районы Амурской области. Маршрут экспедиции пролегал по бассейнам рек Селемджа, Бурей и Нимелен (таблица, рис. 1). Обследовались отдаленные от дорог, труднопроходимые районы, поэтому передвижение осуществлялось по руслу рек на лодках. Удалось собрать большое число разнообразных и ценных в хозяйственном отношении форм смородины дикуши (*Ribes dikusha* Fich.), интродуцировано 50 образцов ДРКР. К сожалению, с пуском в эксплуатацию Бурейской ГРЭС дикорастущие северные популяции многих видов плодовых растений (лимонника, смородины Пальчевского, смородины дикуши, голубики и др.), произрастающие в пойме реки Бурей, были затоплены. Таким образом, образцы смородины, собранные в этих местах, сохранились на ДВОС ВИР и в Clonal Germplasm Repository г. Корваллиса.

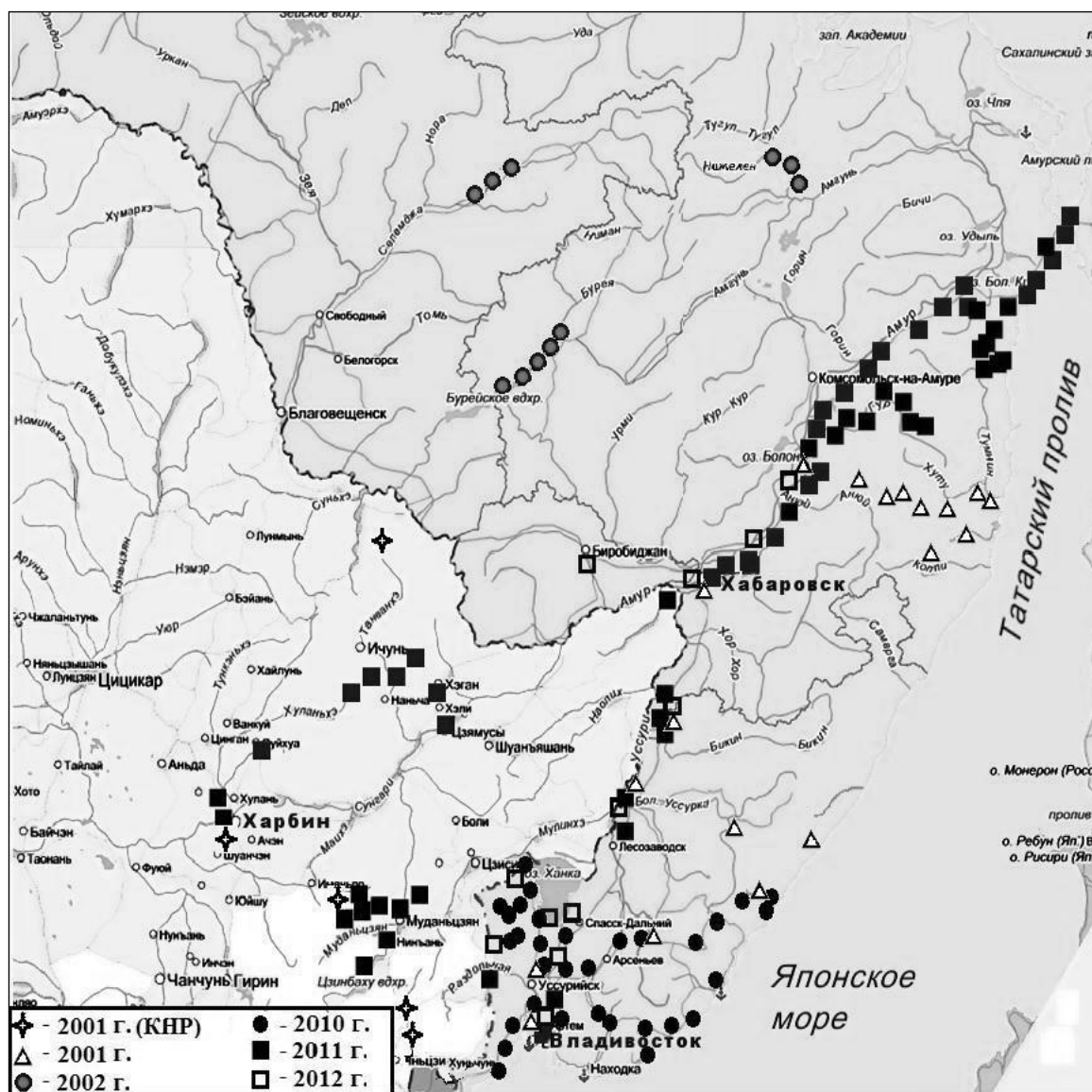


Рис. 1. Карта районов экспедиционных обследований 2001, 2002, 2010–2013 гг. на территории Хабаровского, Приморского краев и северо-востока Китая

**Экспедиции по территории Дальнего Востока России сопредельной
территории северо-восточного Китая,
проведенные ДВОС ВИР в 2001–2013 гг.**

№	Год	Маршрут	Участники	Культуры (число образцов)
1	2	3	4	5
1	2001	КНР: Харбин – Яблоня (провинция Хейлуцзян) – Ванцин (провинция Гирич) – Харбин – Уян (провинция Хейлуцзян)	Сабитов А.Ш. (ДВОС ВИР), Huo Junwei, Sui Wei (КНР)	Жимолость (24)
2	2001	Владивосток – Уссурйск – Дальнегорск – Пластун – Мельничное – Дальнереченск – Бикин – Хабаровск – Лидога – Ванино – Коппи	Сабитов А. Ш., Чебукин П. А., Введенская И. О. (ДВОС ВИР), Фунтова В. Г. (ВИР), Hammer K., Vorsa N. (США)	Смородина (16), актинидия (5), голубика (17), брусника (9), клюква(19), груша (7), малина (14), лещина (5), жимолость (3)
3	2002	Амурская область: бассейн реки Селемджа; Хабаровский край: бассейны рек Буряя и Нимелен	Сабитов А. Ш.	Смородина (44), малина (5), жимолость (1)
4	2003	Сахалинская область: о. Итуруп (Буревестник – Курильск – вулкан Баранского – Лесозаводской – вулкан Атсонопури); о. Сахалин (Южно-Сахалинск – Корсаков – Макаров – Поронайск – Смирных – Пограничное – Тымовское – Ноглики – Нефтегорск – Оха – Три брата – Ильинский – Красногорск – Чехов – Холмск – Южно-Сахалинск – Невельск – Крильон) – Ванино – Владивосток	Сабитов А. Ш., Чебукин П. А. (ДВОС ВИР)	Смородина (24), актинидия (13), черника (34), красника (15), малина (9), голубика (13), морошка (5), земляника (7), брусника (10), клюква (7), жимолость (3), вишня (1), черемуха (2), виноград (1)
5	2005	Сахалинская область: Южно-Сахалинск – Анива – Холмск – Томари – Углегорск – Бошняково – Смирных – Тымовское – Леонидово – Макаров – Южно-Сахалинск – Корсаков; Ванино – Владивосток	Сабитов А. Ш. (ДВОС ВИР), Романова О. И. (ВИР), Honda Y., Suzuki T. (Япония)	Смородина (16), земляника (4), актинидия (7), лимонник (7), гречишные (17), мята (5)

продолжение таблицы 1.

	1	2	3	4
6	2006	О. Кунашир: Южно-Курильск – Менделеев – Головнино – Чайка – озеро Валентина – Горячий пляж – Лагунное	Сабитов А. Ш. (ДВОС ВИР)	Земляника (8), актинидия (4), малина (2)
7	2010	Владивосток – Уссурийск – Пограничный – Барабаш-Левада – о. Ханко – Камень-Рыболов – Платоно-Александровское – Черниговка – Кавалерово – Дальнегорск – Рудная пристань – бухта Владимира – бухта Ольги – Маргаритово – бухта Валентина – Лазо – Киевка – Чистоводное – Артем – Барабаш – Витязь – Владивосток	Сабитов А. Ш. (ДВОС ВИР), Бурляева М. О., Александрова Т. Г. (ВИР)	Вика (139), чина (53), черемуха (1), вишня (5), слива (1), лен (3)
8	2011	Владивосток – Пограничный – КНР: Муданьцзян – Харбин – Ичунь – Фуюань (Провинция Хейлунцзян) – РФ: Хабаровск – п. Смирновка – п. Маяк – с. Лидога – с. Иннокентьевское – с. Ягодный – с. Циммермановка – п. Де-Кастри – мыс Лазарева – перевал через хр. Большой Янг – бухта Сизиман – ж.д. ст. Като – р. Тумнин – п. Высокогорный – п. Кузнецовский – ж.д.ст. Уктур – п. Гурское – п. Вознесенское – Хабаровск – Бикин – Спасск-Дальний – Уссурийск – Владивосток	Вишнякова М. А., Бурляева М. О., Александрова Т. Г. (ВИР), Сабитов А. Ш. (ДВОС ВИР)	Вика (88), чина (40), соя (3), фасоль (4), вигна (4), подсолнечник (1), миндаль (1), крыжовник (1), черемуха (6), жимолость (1), смородина (17), рябина (4), брусника (2), черника (7)
9	2012	Южно-Сахалинск – Корсаков – Невельск; Владивосток – Уссурийск – Пограничный – Камень-Рыболов – Турий Рог – Спасск-Дальний – Дальнеречинск – Бикин – Хабаровск – Лидога – Биробиджан – Владивосток	Дзюбенко Е. А., Багмет Л. В. (ВИР), Сабитов А. Ш. (ДВОС ВИР), Sacks E. J. (США)	Кормовые (43), зернобобовые (11), мискантус (181)

окончание таблицы 1.				
	1	2	3	4
10	2013	Южно-Сахалинск – перевал Невельский – Долинск – мыс Острый – Корсаков – Новиково – Макаров – Смирных – Тымовское – Южно-Сахалинск; Петропавловск-Камчатский – Елизово – Мильково – Атласово – Эссо – Козыревск – вулкан Толбачек – Елизово – вулкан Горелый	Чебукин П. А., Сабитов А. Ш. (ДВОС ВИР), Zhang J. (КНР)	Смородина (3), жимолость (4), брусника (7), голубика (3), земляника (5), черника (2), чина (12), клюква (1), боярышник (1)

С 21 июля по 12 сентября 2003 г. была проведена экспедиция по обследованию дикорастущих плодовых растений на территории Сахалинской области (табл. 1, рис. 2). Общая протяженность маршрута составила 5000 км. В конце июля на острове Итуруп на склоне вулкана Атсонупури были найдены растения земляники итурупской (*Fragaria iturupensis* Staudt). В августе проведены обследования дикорастущих популяций острова Сахалин от полуострова Шмидта до полуострова Крильон. Были выявлены и собраны малоизученные виды, часть из которых, по нашему мнению, следует ввести в культуру. Всего было интродуцировано 23 вида плодово-ягодных растений: смородина лежачая (*Ribes procumbens* Pall.), с. широколистная (*R. latifolium* Jancz.), с. сахалинская [*R. sachalinense* (Fr. Schmidt) Nakai], с. ощетиненная (*R. horridum* Rupr.), с. печальная (*R. triste* Pall.), актинидия коломикта [*Actinidia kolomikta* (Maxim.) Maxim.], лимонник китайский [*Schizandra chinensis* (Turch.) Baill.], жимолость голубая (*Lonicera caerulea* L.), черемуха съори [*Padus ssiorii* (Fr. Schmidt.) Schneid.] и вишня сахалинская [*Cerasus sachalinensis* (Fr. Schmidt) Kom. = *Cerasus sargentii* (Rehd.) H. Ohba], черника Смолла (*Vaccinium smallii* A. Gray = *V. hirtum* Tunb.), голубика (*V. uliginosum* L.), красника (*V. praestans* Lamb.), черника пазушная (*V. axillare* Nakai), брусника (*V. vitis-idaea* L.), клюква болотная (*Oxycoccus palustris* Pers.), к. мелкоплодная (*O. microcarpus* Turcz. ex Rupr.), виноград Куанье (*Vitis coignetiae* Pulliat ex Planch.), три вида земляники, малина, морошка. Всего было привлечено в коллекцию ВИР 144 образца ДРКР.

В первой половине сентября 2005 года на территории Сахалинской области была осуществлена международная российско-японская экспедиция с представителями из Национального института агробиологии г. Цукуба [National Institute of Agrobiological Sciences (NIAS) at Tsukuba] по сбору дикорастущих видов гречихи и плодово-ягодных культур³. Маршрут экспедиции и места сбора образцов указаны в таблице 1 и на рисунке 1. В коллекции NIAS и ВИР были привлечены представители крупяных, овощных, ягодных и других культур (56 образцов). Однако участниками отряда не был найден ранее отмечаемый В. Н. Ворошиловым (1982) на о. Сахалин «аборигенный сорняк»

³ Экспедиция проведена за счет средств National Institute of Agrobiological Sciences (NIAS), Япония.

Fagopyrum tataricum (L.) Gaertn. По всей видимости, семена этого вида завозились с континента вместе с посевным материалом. После того как поля перестали засеивать, исчезли и «заносные растения».

В сентябре 2006 г. провели обследования дикорастущих популяций плодово-ягодных растений на о. Кунашир (табл. 1, рис. 2). Произрастающая на острове земляника относится к виду *Fragaria nipponica* Makino. Растения этого вида мы встречали в окрестностях п. Головнино, Горячий Пляж, Менделеево, Лагунное, кордона Филатовский. Ягоды земляники некрупные, красной окраски, с глубоко вдавленными семенами, очень ароматные, большей частью кисловатые. В окрестностях п. Лагунное мы нашли и одичавшую культурную землянику. Островные популяции жимолости, актинидии в отличие от континентальных характеризуются более поздними сроками начала вегетации и цветения. Культуры жимолости и актинидии коломикта часто страдают из-за возвратных весенних заморозков. Самыми поздноцветущими образцами, по нашим наблюдениям, в коллекциях жимолости ДВОС ВИР и питомника, расположенного в окрестностях г. Портленда (штат Орегон, США), были южнокурильские образцы. Это особенно важно при продвижении культуры жимолости в районы с мягкой и теплой зимой.

Экспедиция 2010 года проходила по территории Приморского края в период с 18 августа по 3 сентября. Маршрут длиной около 2500 км пролегал по 16 административным подразделениям Приморского края: окрестностям г. Владивостока, территориям Уссурийского, Надеждинского, Октябрьского, Пограничного, Ханкайского, Черниговского, Яковлевского, Чугуевского, Дальнегорского, Кавалеровского, Ольгинского, Лазовского, Партизанского, Шкотовского и Хасанского районов (табл. 1, рис. 1)⁴. Экспедиция проводилась в рамках работы по проекту РФФИ 09-04-00574 «Решение проблем классификации и филогении трибы *Vicieae* (Adans.) Bronn. сем. Fabaceae Lindl. на основе анализа молекулярно-генетического полиморфизма ее представителей» и поэтому в первую очередь была направлена на сбор представителей трибы *Vicieae*. Участниками экспедиции были собраны семена (49 образцов) и гербарий (192 образца) представителей всех видов трибы *Vicieae*, встречающихся на вышеперечисленных территориях – 10 видов *Vicia* L. и 6 видов *Lathyrus* L. (Вишнякова и др., 2014a). Всего в ходе экспедиции 2010 г. было обследовано 89 местообитаний и собрано 202 образца семян и гербарных листов 22 видов ДРКР.

В 2011 г. во время полевых работ особое внимание вновь было уделено поиску и изучению представителей трибы *Vicieae*. Были проведены исследования растительности в семи административных подразделениях Хабаровского края: Хабаровском, Нанайском, Комсомольском, Ульчском, Николаевском, Ванинском и Бикинском; в четырех районах Приморского края: Уссурийском, Лесозаводском, Дальнереченском и в окрестностях

⁴ Экспедиция поддержана грантом РФФИ 10-04-10073-к.

г. Владивостока, а также в Хэйлунцзянской провинции Китая (табл. 1, рис. 1)⁵. Длина маршрута составила 5000 км. Было обследовано 91 местообитание и собраны гербарий и семена 128 образцов пяти видов *Lathyrus* и десяти видов *Vicia* (Вишнякова и др., 2014б). В целом были привлечены в коллекцию ВИР семена, косточки, отводки, гербарии 179 образцов 36 видов культурных и дикорастущих родичей культурных растений.

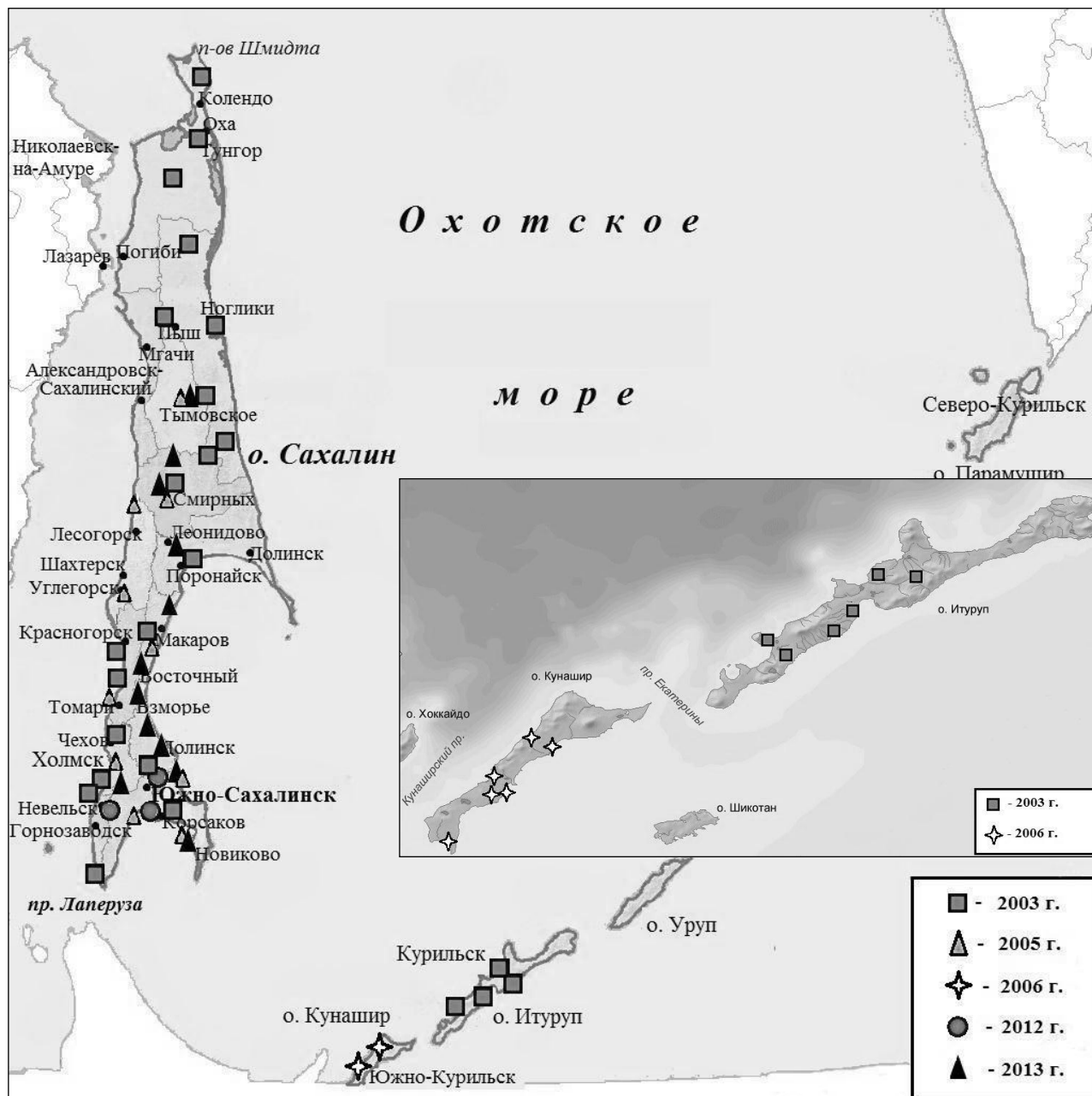


Рис. 2. Карта районов экспедиционных обследований 2003, 2005, 2006, 2012 и 2013 гг. на территории острова Сахалин и Курильских островов

⁵ Экспедиция была выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 11-04-10068-к и Хэйлунцзянского центра по научно-техническому сотрудничеству в области сельского хозяйства между Россией и Китаем.

В 2012 г. состоялась совместная российско-американская экспедиция на о. Сахалин, по Приморскому и Хабаровскому краям с сотрудником из института геномной биологии (Institute for Genomic Biology, University of Illinois, США)⁶. Маршрут экспедиции приведен в таблице 1 и на рисунках 1–2. Основными задачами участников экспедиции были изучение внутривидовой изменчивости *Miscanthus sinensis* Anderss. и *M. sacchariflorus* (Maxim.) Benth. и сбор семян и клонов растений из популяций, произрастающих в разных частях ареала данных видов рода *Miscanthus* Anderss., для дальнейшего исследования их полиморфизма по хозяйственно-ценным и молекулярно-генетическим признакам. Наиболее важными были находки данных видов в самых северных точках распространения. Кроме того, отрядом осуществлялся сбор семян и гербария ДРКР, всего было собрано 235 образцов.



Рис. 3. Карта района экспедиционного обследования на территории полуострова Камчатка (2013 г.)

В 2013 г. была проведена экспедиция совместно с Хэйлунцзянским центром по научно-техническому сотрудничеству в области сельского хозяйства между Россией и Китаем (г. Харбин, КНР) на о. Сахалин и полуостров Камчатка⁷. Протяженность маршрута по о. Сахалин равнялась 1500 км, а по полуострову Камчатка – 1440 км (места и точки сбора представлены в таблице 1 и на рисунках 2–3). Главной целью экспедиции был сбор и изучение

⁶ Экспедиция проведена за счет средств гранта Institute for Genomic Biology – University of Illinois (США).

⁷ Экспедиция финансируется Хэйлунцзянским центром по научно-техническому сотрудничеству в области сельского хозяйства между Россией и Китаем.

дикорастущих плодово-ягодных и бобовых растений, перспективных как для введения в культуру, так и для использования в качестве исходного материала для селекции. Отбирали формы по хозяйственно-ценным признакам (крупноплодности, урожайности, прочности прикрепления ягод и др.) и по эколого-географическим критериям. В результате экспедиции коллекция ВИР пополнилась 45 образцами ДРКР.

Экспедиции 2001–2003, 2005, 2012, 2013 гг. были выполнены при финансовой поддержке зарубежных партнеров. Изучение растительных ресурсов Восточноазиатского региона в 2010–2011 гг. было осуществлено за счет грантов РФФИ 10-04-10073-к, 11-04-10068-к. Всего за период с 2001 по 2013 гг. при участии сотрудников ДВОС ВИР было собрано 1033 образца 74 видов ДРКР. Многие виды черники, голубики, красники, земляники, морошки, мискантуса и других культур были впервые привлечены в коллекции ВИР. Часть собранного семенного материала была передана на сохранение в генхранилища стран, которые профинансировали перечисленные выше экспедиции.

В результате экспедиций, проведенных в 2000-е годы, были сделаны интересные находки и получена новая информация о ДРКР. Были привлечены растения северных популяций смородины ключевой (*Ribes fontaneum* Wozkarnikova). В настоящее время вопрос о самостоятельности данного таксона остается дискуссионным (Ворошилов, 1982; Харкевич, 1988). Изучение найденных форм будет способствовать решению вопроса о статусе смородины ключевой в системе рода *Ribes* L.

Заслуживают внимания результаты экспедиций по изучению популяционного разнообразия нетрадиционных ягодных культур в естественных местах произрастания, позволившие выявить новые ценные формы растений. Несомненный интерес представляют высокорослые (до 2,0 м) крупноплодные формы черники пазушной с полуострова Шмидта, черники Смолла, красники, псевдоморошки с бордовыми ягодами (о. Сахалин). Собранные нами образцы *Fragaria iturupensis* с вулкана Атсонопури острова Итуруп в 2003 г. уже включены в селекционные программы по землянике (Staudt et al., 2009).

Ниже приводим наиболее важные итоги исследования и интродукции растительности Дальнего Востока сотрудниками ДВОС ВИР в период с 2001 по 2013 гг.

Жимолость. Северо-восток Китая интересен зимостойкими растениями. Население Китая широко использует для сбора ягод дикорастущие популяции жимолости, лимонника, актинидии, малины, культивирует их, используя посадочный материал из природы. Мы обследовали естественные популяции синеплодной жимолости Хейлунцзянской провинции и Яньбянь-Корейского автономного округа. Вблизи населенных пунктов Яблоня, Ванцин, Ичунь произрастает *Lonicera bozskarnikova* Plekhanova (жимолость бочкарниковой), предпочитая низинные, достаточно увлажненные места. Другой вид – жимолость голубая – произрастает на возвышенностях (плоскогорье

Чаньбайшань, г. Лаобаньшань). Ее ягоды, как правило, с горечью. Образцы с крупными плодами и удовлетворительным вкусом были собраны в окрестностях Ванцина и Ичуня.

Камчатку можно назвать царством съедобной жимолости. Неоднократные попытки закрепить камчатские формы жимолости на ДВОС ВИР заканчивались неудачей из-за гибели растений в зимний период. Как и черника, сорта малины, голубики, смородины и других ягодников неаборигенного происхождения, она оказалась неустойчивой к зимнему иссушению. Мы отобрали в коллекцию наиболее крупноплодные формы с прочным прикреплением плодов из прибрежного и континентальных районов Камчатского полуострова.

Земляника. На территории Дальнего Востока России произрастают 5 аборигенных видов земляники: *Fragaria iinumae* Makino, *F. nipponica* (= *F. yezoensis* Н. Нара), *F. orientalis* Losinsk., *F. mandshurica* Staudt, *F. iturupensis*. Виды еще недостаточно исследованы из-за ограниченного объема изученного материала. Вид *F. mandshurica* был описан недавно (Staudt G., 2003). *F. iturupensis* впервые была собрана нами в 2003 г. на острове Итуруп (Hummer, Sabitov, 2008). Этот вид оказался единственным в мире естественным декаплоидом (Hummer et al., 2008).

Широко распространившаяся на юге островов Сахалин, Итуруп и Кунашир земляника, по нашим данным, представляет собой одичавшую *Fragaria* × *ananassa* Duch. Ex Rozier. Именно она и послужила исходным материалом при выведении сахалинских ремонтантных сортов земляники. Растения этого вида мы встретили на острове Сахалин: вдоль трассы в 1 км от п. Стародубское на лесной поляне северо-восточного склона г. Гомельская, в окрестностях г. Южно-Сахалинска, на Холмском перевале, на берегу озера Птичьё; на острове Итуруп: в окрестностях п. Буревестник, Горячие ключи; на острове Кунашир вблизи п. Лагунное.

Другие два диплоидных ($2n=14$) островных вида – *F. iinumae* и *F. nipponica* – самобесплодны, с некрупными кисловатыми ягодами. Образцы земляники Йинума были найдены на перевале Невельского и на склоне горы Плоская (о. Сахалин). Землянику ниппонскую мы обнаружили на островах Итуруп (1 популяция), Кунашир (5) и Сахалин (1). В отличие от трех предыдущих видов, растения *F. nipponica* перезимовывают в условиях малоснежных зим пригорода Владивостока практически без повреждений. В итоге наших экспедиций многие виды были обнаружены в новых местах обитаниях, для ряда из них были проведены морфологические описания и популяционное изучение.

Смородина. По хребту Янгиндя Хабаровского края проходит северная граница произрастания *Ribes fontaneum* (смородина ключевая). Вид был описан Н. М. Бочкарниковой в 1967 году (Бочкарникова, 1973). Ареал смородины ключевой приурочен только к системе гор хребта Сихотэ-Алинь, где она растет по распадкам и по берегам горных ручьев. И если в бассейне р. Тумнин она встречается повсеместно, то через водораздел на северных склонах хребта в верховьях р. Уй мы ее уже не нашли, несмотря на схожесть эколого-

географических условий. Это самый длиннокистный и многоцветковый вид черной смородины. Длина кисти у встреченных нами растений варьировала от 4 до 16 см (12–28 цветков) и содержала от 4 до 20 ягод массой 0,5–1,2 г.

Другой вид черной смородины – *R. procumbens* (смородина лежащая или моховка) имеет более обширный ареал. Собранные нами формы произрастали от 14 до 400 м над уровнем моря. Кисть 2–5 см длины с 8–16 цветками и 4–10 округлыми ягодами 0,6–1,3 см в диаметре. Ягоды овальной, округлой или каплевидной формы, зеленой, бурой или черной окраски, очень ароматные. Изучение смородины лежачей в условиях стационара показало, что прибрежные и островные формы более пластичны в условиях культуры, чем растения из более континентальных районов.

Из красных смородин на прибрежных склонах залива Де-Кастри Хабаровского края массово произрастает *R. pallidiflorum* Rojark. (смородина бледноцветковая). Возможно, что это – материковые формы островного вида *R. latifolium* (смородины широколистной), ареал которого охватывает острова Сахалин, Хоккайдо, Хонсю и южные Курильские острова. Основное отличие видов – разная окраска цветка (Харкевич, 1988). Кусты смородины до 2 м высоты, кисти 4,5–16,5 см длины с 10–24 цветками и 6–18 ягодами 0,6–1,3 см в диаметре. Срок созревания – сентябрь. Плодоношение обильное. Формы с прибрежной части залива Де-Кастри были очень урожайными, в отличие от единичных растений этого вида, произраставших в зеленомошных ельниках по склонам возвышенностей, удаленных от побережья.

Кусты *R. triste* (смородина печальная) – самого широко распространенного вида красной смородины – были найдены нами по берегам ручьев и по склонам сопок (окрестности п. Эссо, Камчатская область), имели единичные некрупные ягоды. Этот азиатско-североамериканский вид, близкий к родоначальнику сортов красной смородины, характеризуется самым ранним сроком созревания ягод (июнь – июль).

R. sachalinense – смородина сахалинская, наиболее часто встречаемый вид смородины на острове Сахалин, произрастает на высоте до 250 м н. у. м. (по ключам), масса 100 ягод – от 31,2 до 60,0 г, максимальная масса одной ягоды – 1,2 г. Ягоды при созревании слабо осыпаются. Плоды этого вида сильно опушенные, что делает их непривлекательными (несъедобными) для птиц. Представляет большой интерес для введения в культуру как декоративный вид смородины.

Основными дикорастущими ягодниками Дальнего Востока, заготовка которых ведется в промышленных масштабах, являются представители трибы *Vaccinieae* Reichenb. В наших садах их практически не выращивают, поэтому обследование естественных популяций, отбор и привлечение в коллекции форм с хозяйственно-ценными признаками очень перспективны для создания сортов, приспособленных к местным условиям.

Брусника (*Vaccinium vitis-idaea*) – пока еще малораспространенная ягодная культура. Декоративные и полезные свойства этого растения с каждым годом все больше привлекают владельцев земельных участков. Мы отобрали в

питомник образцы брусники из разных мест произрастаний: с прибрежного склона сопки в 5 км от п. Восточный; из лесополосы, окаймляющей луга, в 476 км от г. Южно-Сахалинска; из мари в 3 км от п. Смирных; с вершины горы Спрут (о. Сахалин); из лиственничника в окрестностях поселков Атласово и Козыревска Камчатского полуострова и с перевала Морской в Ванинском районе Хабаровского края. Растения отличались по величине, окраске, форме ягод и урожайности. Самые крупноплодные формы (масса ягоды 0,6–0,9 г) собрали в 2 км от п. Атласово.

Красника или клоповка (*Vaccinium praestans*) произрастает на Курильских, Японских островах, западном побережье Татарского пролива и на юго-западе Камчатского полуострова. Места произрастания красники приурочены к побережью. По всей видимости, эти растения предпочитают высокую влажность воздуха. Самая высокая точка, где мы обнаружили представителей данного вида, находилась на высоте 197 м н. у. м. (п-ов Шмидта, о. Сахалин). В настоящее время красника недостаточно изучена как ягодная культура, однако пользуется большой популярностью среди местного населения из-за уникальных вкусовых качеств.

У сахалинских представителей этого вида был выявлен сильный полиморфизм как по размеру и массе плодов, так и по их количеству в кисти. Масса 100 ягод у встреченных нами форм колебалась от 67,2 до 110,0 г, количество плодов в кисти достигало у отдельных экземпляров 12 шт.

Растения из популяции красники с перевала Затяжной Хабаровского края – невысокие полустелющиеся, 3–5 см высоты, с 1–4 ягодами массой 0,6–1,3 г. Образцы, отобранные из этой популяции, были высажены на ДВОС. Через год в 2014 году мы наблюдали первое цветение и плодоношение выбранных форм, по нашим данным, они представляют большой интерес для введения в культуру.

Совместно с красникой нередко произрастает **черника Смолла** (*Vaccinium smallii*) и **черника пазушная** (*V. axillare*). Ягоды черники имеют продолговатую, округлую или грушевидную форму, массу до 2,0 г и достигают до 1,4 см в диаметре. Материковые растения черники пазушной с перевалов Затяжной и Каменный Ульчского района Хабаровского края были более низкорослы (0,3–0,8 м), чем островные (0,5–1,8 м). Наиболее крупноплодные формы были отмечены в Долинском и Охинском районах Сахалинской области. Отдельные экземпляры этих видов встречаются на высоте 715 м. Следует отметить, что красника, черника пазушная, черника волосистая, рябина бузинолистная большей частью встречаются в прибрежных районах, где высокая влажность воздуха и обилие осадков в течение всего года предохраняют растения от больших перепадов температур.

Черника (*V. smallii* и *V. axillare*) по популярности среди местного населения стоит на втором месте после красники. Собранные нами образцы отличались высокой урожайностью, крупноплодностью и хорошим вкусом, довольно легко размножаются отводками и могут быть введены в культуру без дополнительной селекционной доработки.

Голубика топяная (*Vaccinium uliginosum*) – самый распространенный ягодник низменностей, занимающих большие пространства бассейна р. Амур, средних частей о. Сахалин и Камчатского полуострова. К концу августа – началу сентября плодоношение практически заканчивается. В питомник были собраны единичные, наиболее крупноплодные формы. Большим преимуществом этого ягодника является высокая зимостойкость. В коллекции ДВОС ВИР приморские растения голубики зимуют без укрытия. На Сахалине растения были сильно повреждены листоверткой сетчатой. Со склонов вулканов Байтоушань (Китай) и Горелый (Камчатка) интродуцированы представители «видов-карликов»: голубики вулканической (*V. vulcanorum* Kom.) и брусники малой [*V. minus* (Lodd.) Worosch.].

Рябина бузинолистная [*Sorbus sambucifolia* (Cham. et Schlecht.) M. Roem], распространенная в прибрежных районах Хабаровского края, в Сахалинской и Камчатской областях, заслуживает внимания как ягодная культура. В отличие от высокорослой рябины амурской, достигающей 15 м, растения рябины бузинолистной низкорослы (до 2 м высоты). Ягоды рябины бузинолистной округлой либо овальной, реже слегка грушевидной формы, кисловато-терпкие, до 1,5 см в диаметре. По качеству ягод *S. sambucifolia* значительно выигрывает у рябины амурской, имеющей мелкие и нередко горчащие плоды. Камчатские растения рябины бузинолистной выделяются более крупными размерами растений и плодов (масса ягоды 0,6–1,4 г).

Многие плодово-ягодные растения декоративны и используются для озеленения как частных домов, так и населенных пунктов. Для этих целей мы собрали образцы видов рябины *Sorbus amurensis* Koehne, *S. sambucifolia*; черемухи *Padus maackii* (Rupr.) Kom. (Хабаровский край); вишни *Cerasus glandulosa* (Thunb.) Loisel. (Приморский край); луизеании *Louiseania triloba* (Lindl.) Pachom. [= *Amygdalus triloba* (Lindl.) Ricker] (Китай); калины *Viburnum burejaeticum* Regel et Herd. (провинция Хейлунцзян) и *Viburnum furcatum* Blume ex Maxim. (Сахалинская область).

Чина, вики. В проведенных экспедициях по территориям Приморского, Хабаровского краев, Сахалинской области, полуострову Камчатке и провинции Хейлунцзян удалось собрать большое число реликтов третичной флоры, представителей видов чины и вики, ранее отсутствовавших в коллекции ВИР, таких как: *Lathyrus davidii* Hance, *L. humilis* (Ser.) Spreng, *L. komarovii* Ohwi, *L. japonicus* Willd., *L. palustris* L., *Vicia baicalensis* (Turcz.) B. Fedtsch., *V. pseudorobus* Fisch. et C. A. Mey., *V. subrotunda* (Maxim.) Czefr., *V. ohwiana* Hosokawa, *V. ramuliflora* (Maxim.) Ohwi, *V. unijuga* A. Br., представляющих несомненный интерес с практической точки зрения как кормовые растения. Некоторые из них были обнаружены в точках сбора, не упоминаемых в местных флорах, что говорит о более широком их ареале.

Изучение биохимического состава сухой травы чины и вики, собранной в естественных условиях произрастания, выявило образцы с высоким содержанием белка (Бурляева и др., 2013). Наибольшие показатели по указанному признаку наблюдались у видов *L. davidii* (19,92–21,85%) и

L. japonicus (16,18–20,94%). Данные виды перспективны для использования в селекции как источники высокого содержания белка и высокой урожайности зеленой массы.

В итоге проведенных экспедиций коллекции генетических ресурсов ВИР пополнились образцами следующих видов:

- | | |
|--|--|
| <i>Actinidia kolomikta</i> (Maxim.) Maxim. | <i>Ribes mandshuricum</i> (Maxim.) Kom. |
| <i>Actinidia arguta</i> (Siebold et Zucc.) Planch. ex Miq. | <i>Ribes pallidiflorum</i> Pojark. |
| <i>Cerasus glandulosa</i> (Thunb.) Loisel. | <i>Ribes procumbens</i> Pall. |
| <i>Cerasus sachalinensis</i> (Fr. Schmidt) Kom. | <i>Ribes sachalinense</i> (Fr. Schmidt) Nakai |
| <i>Corylus heterophylla</i> Fisch. ex Trautv. | <i>Ribes triste</i> Pall. |
| <i>Crataegus chlorosarca</i> Maxim. | <i>Rubus chamaemorus</i> L. |
| <i>Fagopyrum tataricum</i> (L.) Gaertn. | <i>Rubus pseudochamaemorus</i> Tolm. |
| <i>Fragaria</i> × <i>ananassa</i> Duch. ex Rozier | <i>Rubus matsumuranus</i> Levl. et Vaniot
(= <i>R. sachalinensis</i> Levl.) |
| <i>Fragaria iturupensis</i> Staudt | <i>Schizandra chinensis</i> (Turch.) Baill. |
| <i>Fragaria junumae</i> Makino | <i>Sorbus amurensis</i> Koehne |
| <i>Glycine max</i> (L.) Merr. | <i>Sorbus sambucifolia</i> (Cham. et Schlecht.) M. Roem |
| <i>Glycine soja</i> Sieb. et Zucc. | <i>Vaccinium axillare</i> Nakai |
| <i>Grossularia burejensis</i> (Fr. Schmidt) Berger | <i>Vaccinium minus</i> (Lodd.) Worosch. |
| <i>Helianthus annuus</i> L. | <i>Vaccinium praestans</i> Lamb. |
| <i>Lathyrus davidii</i> Hance | <i>Vaccinium smallii</i> A. Gray |
| <i>Lathyrus humilis</i> (Ser.) Spreng | <i>Vaccinium uliginosum</i> L. |
| <i>Lathyrus japonicus</i> Willd. | <i>Vaccinium vitis-idaea</i> L. |
| <i>Lathyrus komarovii</i> Ohwi | <i>Vaccinium vulcanorum</i> Kom. |
| <i>Lathyrus palustris</i> L. | <i>Viburnum burejaeticum</i> Regel et Herd. |
| <i>Lathyrus quinquenervius</i> (Miq.) Litv. ex Kom. | <i>Viburnum furcatum</i> Blume ex Maxim. |
| <i>Linum amurense</i> Alef. | <i>Vicia amoena</i> Fisch. |
| <i>Linum stelleroides</i> Planch. | <i>Vicia amurensis</i> Oett. |
| <i>Lonicera boczkarnikovae</i> Plekhanova | <i>Vicia baicalensis</i> (Turcz.) B. Fedtsch. |
| <i>Lonicera caerulea</i> L. | <i>Vicia cracca</i> L. |
| <i>Louiseania triloba</i> (Lindl.) Pachom. | <i>Vicia hirsuta</i> (L.) S. F. Gray |
| <i>Miscanthus sacchariflorus</i> (Maxim.) Benth. | <i>Vicia japonica</i> A. Gray |
| <i>Miscanthus sinensis</i> Anderss. | <i>Vicia ohwiana</i> Hosokawa |
| <i>Oxycoccus microcarpus</i> Turcz. ex Rupr. | <i>Vicia pseudorobus</i> Fisch. et C. A. Mey. |
| <i>Oxycoccus palustris</i> Pers. | <i>Vicia ramuliflora</i> (Maksim.) Ohwi |
| <i>Padus maackii</i> (Rupr.) Kom. | <i>Vicia segetalis</i> Thuill. |
| <i>Padus ssiorii</i> (Fr. Schmidt.) Schneid. | <i>Vicia subrotunda</i> (Maxim.) Czefr. |
| <i>Phaseolus vulgaris</i> L. | <i>Vicia unijuga</i> A. Br. |
| <i>Prunus ussuriensis</i> Koval. et Kost. | <i>Vigna angularis</i> (Willd.) Ohwi et Ohashi |
| <i>Pyrus ussuriensis</i> Maxim. | <i>Vigna radiata</i> (L.) R. Wilczek |
| <i>Ribes dikusha</i> Fisch. ex Turcz. | <i>Vigna unguiculata</i> subsp. <i>sesquipedalis</i> (L.) Walp |
| <i>Ribes fontaneum</i> Boczkarnikova | <i>Vitis coignetiae</i> Pulliat ex Planch. |
| <i>Ribes horridum</i> Rupr. | |
| <i>Ribes latifolium</i> Jancz. | |

Часть собранных видов представлена эндемиками Дальнего Востока и Сибири: *Actinidia kolomikta*, *A. arguta*, *Cerasus glandulosa*, *Lathyrus komarovii*, *Linum amurense*, *L. stelleroides*, *Ribes dikusha*, *R. fontaneum*, *R. sachalinense*,

R. horridum, *Rubus pseudochamaemorus* L., *R. sachalinensis*, *Fragaria iturupensis*, *Pyrus ussuriensis*, *Schizandra chinensis*, *Sorbus sambucifolia*, *Vaccinium axillare*, *V. smallii*, *V. praestans*, *Viburnum furcatum*, *Vicia amurensis*, *V. ohwiana*, *V. subrotunda*, половина из которых внесены в Красную книгу растений Дальнего Востока. Из ягодников наиболее интересными для нас были сборы образцов смородины ключевой – эндемика Дальнего Востока из северной части ареала, урожайных форм смородин бледноцветковой, моховки, красники и черники пазушной с восточного побережья Татарского пролива, земляники итурупской и нимеленских форм смородины дикуши. В результате проведенных исследований в разных климатических зонах Китая, Сахалинской и Камчатской областей была собрана уникальная коллекция съедобной жимолости, отражающая многообразие форм этой культуры. Изучение интродуцированных форм позволит выявить генотипы, значимые для селекции.

Привлечение выявленных нами в природных растительных сообществах новых ценных образцов, форм и видов растений будет способствовать сохранению биоресурсов и позволит обогатить ассортимент культур, используемых в различных отраслях хозяйства.

Литература

- Бочкарникова Н. М. Черная смородина на Дальнем Востоке. Владивосток, 1973. 183 с.
- Бурляева М. О., Соловьева А. Е., Сабитов А. Ш. и др. Внутривидовое разнообразие дальневосточных видов рода *Lathyrus* L.: биохимический и молекулярный аспекты // Тезисы докладов конференции «Растения в муссонном климате VI». Владивосток, 2013 г. С. 96–97.
- Вишнякова М. А., Бурляева М. О. и др. Экспедиционные сборы представителей трибы *Vicieae* в Российской Федерации и на сопредельных территориях. Приморский край // Тр. по прикл. бот., ген. и сел. 2014а. Т. 175. С. 22–25.
- Вишнякова М. А., Бурляева М. О. и др. Экспедиционные сборы представителей трибы *Vicieae* в Российской Федерации и на сопредельных территориях. Хабаровский край и северо-восточный Китай // Тр. по прикл. бот., ген. и сел. 2014б. Т. 175. С. 63–67.
- Ворошилов В. Н. Определитель растений советского Дальнего Востока. М., 1982. 672 с.
- Тагильцев Ю. Г., Колесникова Р. Д., Нечаев А. А. Дальневосточные растения – наш доктор. Хабаровск, 2004. 520 с.
- Харкевич С. С. Сосудистые растения советского Дальнего Востока. Л., 1988. Т. 3. С. 114–131.
- Чебукин П. А., Сабитов А. Ш. и др. Экспедиционные обследования ягодников Сахалинской области в 2003 году // Генетические ресурсы растениеводства Дальнего Востока. Владивосток, 2004. С. 289–293.
- Staudt G., Schneider S. et al. *Fragaria iturupensis*: a new source for strawberry improvement? // Acta Horticulture. 2009. V. 842. P. 479–482.
- Hummer K. E., Sabitov A. *Vaccinium* from Primorsky, Khabarovsk, Amursky and Sakhalin Territories, Russia // Acta Horticulture. 2006. V. 715. P. 91–96.

- Hummer K., Sabitov A.* et al. Strawberry species of Iturup and Sakhalin Islands // Hort. Science. 2008. V. 43. P. 1623–1625.
- Honda Y., Suzuki T.* et al. Collaborative exploration and collection of resources crops including tartary buckwheat, *Fagopyrum tataricum* L. in Sakhalin, Russia // Annual Report on exploration and introduction of plant genetic resources. 2006. V. 22. P. 91–96.

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ
КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ И ИХ ДИКИХ РОДИЧЕЙ
ДЛЯ РЕШЕНИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ И ПРИКЛАДНЫХ ПРОБЛЕМ
IDENTIFYING GENETIC DIVERSITY OF CULTIVATED PLANTS AND THEIR WILD
RELATIVES TO RESOLVE FUNDAMENTAL AND PRACTICAL PROBLEMS**

УДК 582.5/.9+633.18:581.9

**ГЕНЕТИЧЕСКОЕ И ФЕНОТИПИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ
КОЛЛЕКЦИИ РИСА В КАЗАХСТАНЕ***

**С. И. Аbugалиева¹, С. М. Байбосынова², А. Б. Кондыбаев¹,
А. Н. Подольских², Е. К. Туруспеков¹**

¹ Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы, Казахстан,
e-mail: absaule@yahoo.com

² Казахский научно-исследовательский институт рисоводства им. И. Жахаева,
Кызылорда, Казахстан

Резюме

Коллекция риса *Oryza sativa* L. Казахского научно-исследовательского института рисоводства им. И. Жахаева (Кызылорда, Казахстан), состоящая из 96 сортов и перспективных линий, изучена по 20 показателям продуктивности и качества зерна, аллельному состоянию 26 микросателлитных (SSR) локусов. Выявлена внутрисортная гетерогенность коллекционных сортов риса. Осуществлена генетическая паспортизация сортов риса Казахстана. Выделен ряд наиболее перспективных линий риса, характеризующихся высокой продуктивностью, качеством, скороспелостью, адаптивностью и другими ценными показателями.

Ключевые слова: рис, генетическое разнообразие, урожайность, качество зерна, SSR-маркеры.

**GENETIC AND PHENOTYPIC DIVERSITY OF THE RICE COLLECTION
IN KAZAKHSTAN**

**S. I. Abugalieva¹, S. M. Baibosynova², A. B. Kondybaev¹, A. N. Podolskih²
& Ye. K. Turuspekov¹**

¹ Institute of Plant Biology and Biotechnology, Almaty, Kazakhstan,
e-mail: absaule@yahoo.com

² Kazakh Rice Research Institute, Kyzylorda, Kazakhstan

Summary

The collection of *Oryza sativa* L. from the Kazakh Rice Research Institute, Kyzylorda, Kazakhstan, which consisted of 96 accessions, has been analyzed according to 20 indicators of yield, grain quality traits, and allelic status of 26 microsatellite (SSR) loci. Intra-varietal heterogeneity of a number of rice accessions has been revealed. Genetic passports for commercial rice cultivars from Kazakhstan were developed. A number of promising rice lines have been selected for their high yield, grain quality, earliness, adaptability and other valuable traits.

Keywords: rice, genetic diversity, yield, grain quality, SSR markers.

Введение

Рис (*Oryza sativa* L.) является одной из стратегически важных зерновых культур в мире, в том числе в Казахстане. Рис занимает второе место в мире по площади посевов (около 145 млн. га) и первое по урожайности среди всех злаковых. Это наиболее продуктивная культура, потенциальная урожайность которой может достигать 50 т/га (Ляховкин, 2005). По данным Департамента сельского хозяйства США за 2010–2011 годы валовой сбор риса в мире составил 441,52 млн. тонн. Это основной продукт питания 2,5 миллиардов человек в Азии и сотен миллионов людей на остальных континентах (Ляховкин, 2005). В Казахстане в Кызылординской и Алматинской областях высевается рис на площади более чем 100 тыс. га. Средняя урожайность риса в Казахстане колеблется от 3,5 до 5,0 т/га, что обусловлено множественными стрессовыми факторами окружающей среды.

В Казахском научно-исследовательском институте рисоводства им. И. Жахаева (КазНИИ рисоводства), как и во многих профильных селекционных учреждениях других стран, проводится непрерывная селекционная работа с привлечением огромного генетического потенциала коллекционных образцов риса, собранных в международных генетических банках (Подольских, Байбосынова, 2012). Мировая коллекция риса обладает большим разнообразием признаков и свойств и используется в гибридизации с целью получения сортов, сочетающих в себе высокую урожайность, качество крупы, устойчивость к биотическим и абиотическим стрессовым факторам (холоду, засолению почвы и полеганию). В рамках исследований впервые в Казахстане создана Национальная коллекция растительных ресурсов риса, адаптированных к уникальным природно-климатическим условиям рисосеяния Казахстана. Для формирования генофонда риса отбираются новые формы, включающие генетические линии, мутанты, гибриды, синтезируемые в процессе различных селекционно-генетических экспериментов (Подольских и др., 2012). Для создания сортов риса с принципиально новыми признаками и расширения генетического базиса культуры проводится акклиматизация ранее не культивируемого в Казахстане подвида *Oryza sativa* subsp. *indica* S. Kato.

Одним из подходов повышения урожайности является изучение генетических и физиологических ресурсов растений для поиска оптимальных гаплотипов с целью создания адаптированных и продуктивных сортов риса для рисосеяющих регионов Казахстана. Для достижения этой цели необходимо изучить коллекцию риса, оценить исходный растительный материал с использованием полиморфных ДНК-маркеров по компонентам урожайности, качеству зерна, что позволит выявить уровень разнообразия и особенности происхождения образцов коллекции. Обобщение таких данных может привести к созданию научной базы для конструирования новых высокопродуктивных сортов для конкретных регионов выращивания риса. В процессе генетических исследований будет сформирован уникальный генофонд линий с

комплексными донорными свойствами по наиболее ценным селекционным признакам.

В данной работе приводятся результаты исследований по изучению 96 сортов и линий риса, выращенных в Кызылординской области Казахстана, по генетическим и фенотипическим признакам (Turuspekov et al., 2013). В качестве генетических маркеров были использованы микросателлитные SSR (*simple sequence repeats*, или простые повторяющиеся последовательности) маркеры.

Материалы и методы

Материалом исследований служили 96 сортов и линий риса различного происхождения (табл. 1), собранные в коллекции КазНИИ рисоводства (г. Кызылорда). Большинство образцов принадлежали к подвиду *O. sativa* subsp. *japonica* S. Kato (табл. 1), кроме того, анализировались образцы подвида *O. sativa* subsp. *indica* и гибриды от скрещиваний между образцами дикого вида *O. rufipogon* Griff. и подвидов *O. sativa* subsp. *indica* и *O. sativa* subsp. *japonica* (трехтаксонная линия, TTL).

Таблица 1. Список образцов коллекции риса

№	Название сорта/линии	Происхождение	Группа	№	Название сорта/линии	Происхождение	Группа
r01	К-488	Япония	ЕА	r49	КО-216	Казахстан	KZ
r02	К-584	Азербайджан	WA	r50	К-217	Казахстан	KZ
r03	К-2483	Япония	ЕА	r51	К-218	Казахстан	KZ
r04	К-2526	Казахстан	KZ	r52	КО-219	Казахстан	KZ
r05	К-2822	Азербайджан	WA	r53	К-239	Россия	RU
r06	К-3050	Таджикистан	СА	r54	КО-245	Казахстан	KZ
r07	К-3077	Казахстан	KZ	r55	КО-266	Казахстан	KZ
r08	К-3830	Венгрия	EU	r56	К-269	Казахстан	KZ
r09	К-3875	Таджикистан	СА	r57	К-273	Турция	WA
r10	К-3903	Китай	ЕА	r58	КО-285	Казахстан	KZ
r11	К-4693	Испания	EU	r59	К-287	Казахстан	KZ
r12	К-4694	Испания	EU	r60	Арпа-шалы	Узбеки-стан	СА
r13	К-5105	Иран	WA	r61	Дунган-шалы	Казахстан	KZ
r14	К-6266	Украина	EU	r62	Казахи-шалы	Казахстан	KZ
r15	К-6267	Украина	EU	r63	Кызыл-шалы	Узбеки-стан	СА
r16	К-6811	Непал	ЕА	r64	Местный	Казахстан	KZ
r17	К-6875	Франция	EU	r65	Арал-5	Казахстан	KZ
r18	К-7438	Франция	EU	r66	Арал-6	Казахстан	KZ
r19	К-8441	Венгрия	EU	r67	Арал-7	Казахстан	KZ
r20	К-8642	Италия	EU	r68	Арал-8	Казахстан	KZ
r21	КО-41	Казахстан	KZ	r69	Тогускен*	Казахстан	KZ
r22	К-48	Казахстан	KZ	r70	Аметист	Россия	RU
r23	КО-49	Казахстан	KZ	r71	Гарант	Россия	RU
r24	КО-51	Казахстан	KZ	r72	Дружный	Россия	RU

окончание таблицы 1.

r25	КО-63	Казахстан	KZ	r73	Кубань 3*	Россия	RU
r26	К-80	Казахстан	KZ	r74	Лазурный*	Узбекистан	CA
r27	К-83	Казахстан	KZ	r75	Новатор*	Россия	RU
r28	К-88	Казахстан	KZ	r76	Рапан	Россия	RU
r29	КО-89	Казахстан	KZ	r77	Регул	Россия	RU
r30	КО-90	Казахстан	KZ	r78	V-20 NPT-35-1	Казахстан	KZ
r31	КО-102	Казахстан	KZ	r79	V-20F-339	Казахстан	KZ
r32	КО-105	Казахстан	KZ	r80	V-20F-340	Казахстан	KZ
r33	КО-113	Казахстан	KZ	r81	V-20F341	Казахстан	KZ
r34	КО-114	Казахстан	KZ	r82	V-20 Red	Казахстан	KZ
r35	КО-139	Казахстан	KZ	r83	Анаит *	Россия	RU
r36	КО-164	Казахстан	KZ	r84	Арал 202*	Казахстан	KZ
r37	К-165	Казахстан	KZ	r85	Ару*	Казахстан	KZ
r38	КО-171	Казахстан	KZ	r86	Баканасский*	Казахстан	KZ
r39	К-182	Казахстан	KZ	r87	Заря*	Казахстан	KZ
r40	КО-183	Казахстан	KZ	r88	Лидер*	Россия	RU
r41	К-185	Казахстан	KZ	r89	Мадина*	Казахстан	KZ
r42	К-186	Казахстан	KZ	r90	Маржан*	Казахстан	KZ
r43	КО-190	Казахстан	KZ	r91	Опытное*	Казахстан	KZ
r44	КО-197	Казахстан	KZ	r92	Ренар*	Россия	RU
r45	К-198	Казахстан	KZ	r93	Суаг*	Казахстан	KZ
r46	К-199	Казахстан	KZ	r94	Фишт*	Россия	RU
r47	К-201	Казахстан	KZ	r95	Шарм*	Россия	RU
r48	К-205	Казахстан	KZ	r96	Янтарь*	Россия	RU

Примечание: CA – Центральная Азия, EA – Восточная Азия,
WA – Западная Азия, EU – Европа, KZ – Казахстан, RU – Россия;

* – сорта Государственного реестра селекционных достижений, допущенных к использованию в Республике Казахстан.

Список образцов также включает 20 коммерческих сортов риса, то есть сортов, допущенных к использованию на территории Республики Казахстан. Коллекция была изучена на экспериментальных полях КазНИИ рисоводства в 2012–2013 годах.

Растения выращивали в рандомизированных блоках в трехкратной повторности. Посев проводили вручную в трехкратной повторности на двухрядковых делянках длиной 1 м, расстояние между делянками 0,3 м, семена заделывали на глубину 1,5–2,0 см, норма высева составляла 200 зерен на делянку. Изучаемая коллекция была оценена по компонентам урожайности и признакам, определяющим качество зерна с использованием соответствующих методов и ГОСТов (Методические указания ВИР, 1982, 1984).

Образцы ДНК были выделены из проростков риса с использованием метода Деларпорта (Delaporta, 1983). Для изучения генетического разнообразия риса использованы микросателлитные маркеры, являющиеся наряду со многими другими ДНК-маркерами (SNP, AFLP, и др.) одними из наиболее используемых информативных и надежных классов маркеров (Temnykh et al., 2000, 2001; McCouch et al., 2002; Мухина, 2010; Абугалиева и др. 2012, 2013). Мотивы и

последовательности праймеров для полиморфных микросателлитных ДНК-маркеров даны в таблице 2. Уровень генетического разнообразия оценен с помощью прикладной программы PopGene 32 (Yeh et al., 2000). Дендрограмма, отражающая степень генетического сходства проанализированных образцов риса, построена с помощью метода Neighbor joining и коэффициента сходства Jaccard с использованием программы GGT2 (Van Berloo, 2008). Особенности взаимодействия «генотип–окружающая среда» были изучены с помощью метода «GGE biplot» программы GenStat 17.0 (Payne, 2009).

Таблица 2. Список праймеров, использованных для микросателлитного анализа сортов и линий коллекции риса

Прай мер	F-последовательность	R-последовательность	Мотив
RM1	GCGAAAACACAATGCAAAAA	GCGTTGGTTGGACCTGAC	(GA)26
RM5	TGCAACTTCTAGCTGCTCGA	GCATCCGATCTTGATGGG	(GA)14
RM13	TCCAACATGGCAAGAGAGAG	GGTGGCATTTCGATTCCAG	(GA)6-(GA)16
RM16	CGTAGGGCAGCATCTAAA	AACACAGCAGGTACGCGC	(TCG)5(GA)16
RM19	CAAAAACAGAGCAGATGAC	CTCAAGATGGACGCCAAGA	(ATC)10
RM44	ACGGGCAATCCGAACAACC	TCGGGAAAACCTACCCTACC	(GA)16
RM105	GTCGTGACCCATCGGAGCCAC	TGGTCGAGGTGGGGATCGGGTC	(CCT)6
RM124	ATCGTCTGCGTTGCGGCTGCTG	CATGGATCACCGAGCTCCCCC	(TC)10
RM125	ATCAGCAGCCATGGCAGCGACC	AGGGGATCATGTGCCGAAGGCC	(GCT)8
RM135	CTCTGTCTCCTCCCCGCGTCG	TCAGCTTCTGGCCGGCCTCCTC	(CGG)10
RM144	TGCCCTGGCGCAAATTTGATCC	GTAGAGGAGATCAGATGGTAGTGCATG	(ATT)11
RM152	GAAACCACCACACCTCACCG	CCGTAGACCTTCTTGAAGTAG	(GGC)10
RM162	GCCAGCAAAACCAGGGATCCGG	CAAGGTCTTGTGCGGCTTGCGG	(AC)20
RM171	AACGCGAGGACACGTACTTAC	ACGAGATACGTACGCCTTTG	(GATG)5
RM212	CCACTTTCAGCTACTACCAG	CACCCATTTGTCTCTCATTATG	(CT)24
RM215	CAAAATGGAGCAGCAAGAGC	TGAGCACCTCCTTCTCTGTAG	(CT)16
RM235	AGAAGCTAGGGCTAACGAAC	TCACCTGGTCAGCCTCTTTC	(CT)24
RM245	ATGCCGCCAGTGAATAGC	CTGAGAATCCAATTATCTGGGG	(CT)14
RM248	TCCTTGTGAAATCTGGTCCC	GTAGCCTAGCATGGTGCATG	(CT)25
RM277	CGGTCAAATCATCACCTGAC	CAAGGCTTGCAAGGGAAG	(GA)11
RM317	CATACTTACCAGTTCACCGCC	CTGGAGAGTGTGAGCTAGTTGA	(GC)4(GT)18
RM334	GTTTCAGTGTTTCAGTGCCACC	GACTTTGATCTTTGGTGGACG	(CTT)20
RM338	CACAGGAGCAGGAGAAGAGC	GGCAAACCGATCACTCAGTC	(CTT)6
RM451	CTGATCGAGAGCGTTAAGGG	GGGATCAAACCACGTTTCTG	(GAT)8
RM455	AACAACCCACCACCTGTCTC	AGAAGGAAAAGGGCTCGATC	(TTCT)5
RM510	AACCGGATTAGTTTCTCGCC	TGAGGACGACGAGCAGATTC	(GA)15

Результаты и обсуждение

В полевых условиях КазНИИ рисоводства проведены исследования по изучению коллекции отечественных и зарубежных форм риса по компонентам урожайности и по технологическим показателям риса. Коллекция, состоящая из

96 отечественных и зарубежных образцов риса, была изучена в трехкратной рандомизированной повторности. Весь материал был изучен по показателям компонентов урожайности и технологическим показателям риса.

Продолжительность вегетации – главный лимитирующий фактор в температурных и гидрологических условиях Южного Казахстана, поэтому селекция здесь должна быть направлена на создание скороспелых сортов. Установлено, что дата выметывания в большей степени характеризует скороспелость сорта, чем дата созревания, и именно она принята в качестве характеристики длительности вегетационного периода сорта. В 2013 году продолжительность периода от затопления посевов водой до начала выметывания растений варьировала от 62 до 87 дней при 70 у сорта-стандарта ‘Маржан’. Наибольшей скороспелостью в 2012–2014 гг. характеризовались образцы из СНГ, Дальнего Востока и Таджикистана. Наряду с ними были выделены казахстанские образцы коллекции КазНИИ рисоводства (КО-49, КО-51, КО-164, КО-219).

Высота растений анализированных образцов риса варьировала в пределах от 65,0 см (линии *O. sativa* subsp. *indica* V-20F-339, V-20F-340, V-20F-341, Казахстан) до 125,0 см (сорта ‘Тогускен’, ‘Арпа-шалы’) со средним значением 99,8 см, длина метелки – в пределах 11,4–22,4 см (среднее значение – 16,0 см), индекс метелки (отношение длины метелки к высоте растения) варьировал в пределах 11,0–24,2.

Форма зерна – устойчивый сортовой признак, который почти не меняется в зависимости от погоды и почвенно-климатических условий зоны выращивания. По форме зерновки [индекс зерна l/w – отношение длины (l) к ширине (w)] различают короткозерные ($l/w=1,4–2,0$), среднезерные ($d/w =2,1–3,0$) и длинозерные (l/w более 3,0) сорта риса. В анализированной коллекции наблюдали размах значений данного показателя в пределах от 1,7 (‘Арал–7’) до 4,2 (линии *O. sativa* subsp. *indica* V-20F-340, V-20F-341, Казахстан).

Масса 1000 зерен варьировала в данной коллекции от 21,1 г (К-3077, Казахстан) до 37,5 г (КО-216, Казахстан).

Пленчатость – содержание цветковых и колосковых чешуй в массе зерна, выраженное в процентах. Чем выше пленчатость, тем ниже выход крупы (при изменении ее на 1% выход крупы изменяется на 1,5–2,0%). Соответственно, у лучших сортов обычно низкие значения пленчатости – 16,0–18,0%. Для анализируемой коллекции риса значения данного показателя варьировали от 15,8% (‘Кызыл-шалы’, Казахстан) до 22,3% (К-8441, Венгрия). Наибольшими значениями данного признака характеризовались немногие старые сорта местной селекции и новые сорта с длинной и продолговатой формой зерновки. С этой их особенностью связан более низкий (на 2,0–4,0%) общий выход крупы по сравнению с сортами, имеющими округлое зерно.

Общий выход крупы варьировал от 64,1% (К-5105, Иран) до 72,7% (КО-105, Казахстан). Высокий общий выход крупы (69,0% и выше) был у образцов К-2483 (Япония), 4693 (Испания), 6875, 7438 (Франция), К-8642 (Италия), КО-102, КО-105, КО-113, КО-114, КО-139, КО-164, КО-190, КО-197, КО-266, КО-285 (Казахстан).

Зерновки со стекловидным эндоспермом обеспечивают высокий выход крупы хорошего качества. Стекловидный эндосперм лучше противостоит

механическим разрушениям при переработке зерна, более прочен и в меньшей степени дробится. В наших исследованиях наиболее стекловидный эндосперм имели коллекционные образцы К-2483 (Япония), К-3077 (Казахстан), К-3830 (Венгрия), К-6266, (Украина), КО-63, КО-89, КО-197 (Казахстан). Трещиноватость эндосперма варьировала от нуля (К-487, Узбекистан) до 7% (КО-257, Казахстан). Наиболее устойчивое к дроблению ядро (менее 7% трещиноватости) имели: К-2822 (Азербайджан), К-3830, К-8441 (Венгрия), К-5105 (Иран), К-4693, К-4694 (Испания), К-3903 (Китай), К-6811 (Непал), К-6266 (Украина), К-2483 (Япония), К-6875, К-7438 (Франция), КО-48, КО-51, КО-63, КО-90, КО-102, КО-105, КО-114, КО-139, КО-171, КО-183, КО-198, КО-201, КО-245, (Казахстан).

В результате исследований выявлены наиболее перспективные линии риса, формируется генетическая коллекция доноров количественных показателей, определяющих продуктивность, качество, скороспелость, адаптивность и другие ценные характеристики. Так, в таблице 3 представлены некоторые из них. Выявленные в анализированной коллекции генотипы риса могут служить донорами скороспелости, продуктивности метелки, стекловидности, выхода сортовой крупы.

Таблица 3. Коллекционные образцы риса – доноры хозяйственно-ценных признаков

Признаки	Доноры (№ по каталогу, страна)
Скороспелость	К-4693 (Испания), КО-49, КО-164, КО-219 (Казахстан)
Продуктивность метелки	К-7438 (Франция), К-8441 (Венгрия),
Стекловидность эндосперма	К-6266 (Украина), К-6875 (Франция), КО-90, КО-102, КО-105, КО-183, КО-197 (Казахстан)
Выход сортовой крупы	К-6266, (Украина), К-6875 (Франция), КО-90, КО-102, КО-105, КО-139, КО-197 (Казахстан)

Результаты полевых данных были использованы для изучения корреляционных связей элементов продуктивности и технологических показателей риса с использованием индекса Пирсона. Анализ данных 2012 года позволил установить высоко достоверную связь между массой зерен на растении и количеством зерен на растении, индексом КИАМ, плотностью метелки и массой 1000 зерен ($P < 0.00001$). Кроме того, данный признак был также статистически связан с индексом метелки ($P < 0.05$). Основные показатели технологических признаков, такие как общий выход крупы и сортовой крупы высоко коррелировали между собой ($P < 0.001$). При этом выход сортовой крупы, в отличие от общего выхода крупы, значительно коррелировал с формой зерновки (длина, ширина, толщина) и стекловидностью. Оба технологических признака были статистически достоверно связаны с индексом метелки, пленчатостью и трещиноватостью зерновок.

Средние показатели по ряду ключевых признаков урожайности и качества приведены в таблице 4. Анализ полевых данных 2013 года по корреляции урожайности растений с компонентами урожайности позволил выявить те же закономерности, что и для 2012 года. Признак массы зерна положительно коррелировал с признаком числа зерен/колос ($P < 0.0001$), а признак выхода сортовой муки отрицательно коррелировал с признаком длины зерновки. Сравнительный анализ показателей 2012 и 2013 годов свидетельствует о высокой корреляции между данными экспериментами.

Графический двумерный анализ взаимодействия «генотип–окружающая среда» с использованием прикладной программы GenStat позволил выявить наиболее перспективные сорта и линии риса отдельно для экспериментов 2012 и 2013 годов и образцы, которые показали высокую продуктивность в условиях двух лет (рис. 1), на основе использования метода главных компонент. Проведенный анализ позволил выявить, что 71,7% вариабельности определяется главным компонентом PC1, тогда как PC2 объяснял остальные 28,3% процентов общей изменчивости (рис. 1).

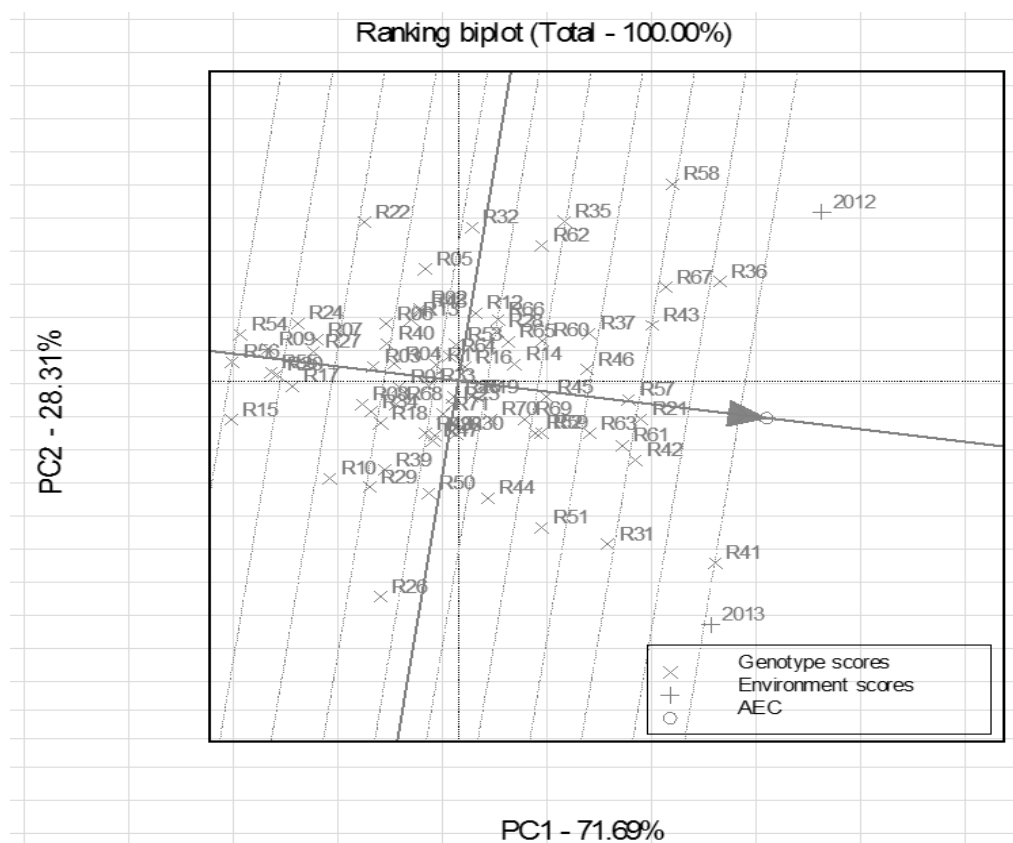


Рис. 1. Графическое распределение сортов и линий риса в условиях выращивания 2012 и 2013 гг. в Кызылординской области Казахстана

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о характере корреляции компонентов урожайности и технологических признаков сортов и линий риса, выращенных в 2012–2013 годах. Анализ особенностей взаимодействия «генотип–окружающая среда» позволил выявить наиболее перспективные линии риса как для условий каждого года выращивания в Кызылординской области, так и условий двух лет выращивания одновременно.

Таблица 4. Средние показатели хозяйственно-ценных признаков риса, выращенного в Кызылординской области в 2013 г.

Группы	EA	WA	CA	EU	RU	TTL	IND	KZ:	KZ-L	KZ-C
Количество образцов	4	4	5	9	14	14	5	37	24	13
Высота растений, см	110,2± 2,76	113,3± 5,12	105,2± 7,58	101,3± 3,62	104,1± 1,67	98,14± 2,52	69,21± 1,81	106,33± 2,51	103,51± 2,84	111,42± 3,09
Длина метелки, см	16,63± 0,65	19,08± 0,08	17,28± 0,89	15,83± 0,78	15,11± 0,29	14,39± 0,36	15,26± 0,55	16,81± 0,41	16,63± 0,46	30,83± 0,85
Число зерен	69,01± 3,03	73,01± 8,99	77,41± 9,58	91,38± 5,11	124,71± 13,66	119,51± 9,81	113,01± 9,28	109,52± 6,07	97,46± 6,17	132,1± 9,99
Масса зерна, г	1,75± 0,13	1,75± 0,24	1,59± 0,15	1,89± 0,08	2,19± 0,18	2,21± 0,13	2,34± 0,16	2,23± 1,12	2,07± 0,14	2,59± 0,19
Масса 1000 зерен, г	29,81± 1,33	29,69± 0,75	27,27± 1,45	29,48± 1,53	26,99± 0,47	27,96± 0,83	30,46± 0,63	29,45± 0,56	29,42± 0,78	29,65± 0,69
Длина зерновки, см	7,78± 0,29	8,25± 0,07	7,96± 0,48	8,27± 0,32	8,08± 0,27	8,45± 0,15	9,08± 0,24	8,37± 0,14	8,37± 0,18	8,35± 0,21
Выход сортовой крупы, %	55,53± 1,77	51,72± 0,43	54,27± 2,93	52,39± 2,25	54,89± 1,45	54,81± 1,23	47,35± 2,41	54,41± 0,84	53,73± 1,17	55,79± 1,12

Примечание: CA – Центральная Азия, EA – Восточная Азия, WA – Западная Азия, EU – Европа, KZ – Казахстан, RU – Россия; KZ-C – сорта, KZ-L – линии, IND – *Oryza sativa* subsp. *indica* S. Kato, TTL – трехтаксонная линия.

В результате анализа 96 образцов коллекции с использованием 30 микросателлитных SSR-локусов было установлено, что 26 из них оказались

полиморфными для данной коллекции. В результате микросателлитного анализа были получены электрофоретические профили для каждого сорта/линии по всем 26 SSR-локусам. Примеры некоторых из них приведены на рисунке 2. Результаты уровня разнообразия ДНК-маркеров в целом и по регионам происхождения сортов/линий приведены в таблицах 5 и 6 соответственно.

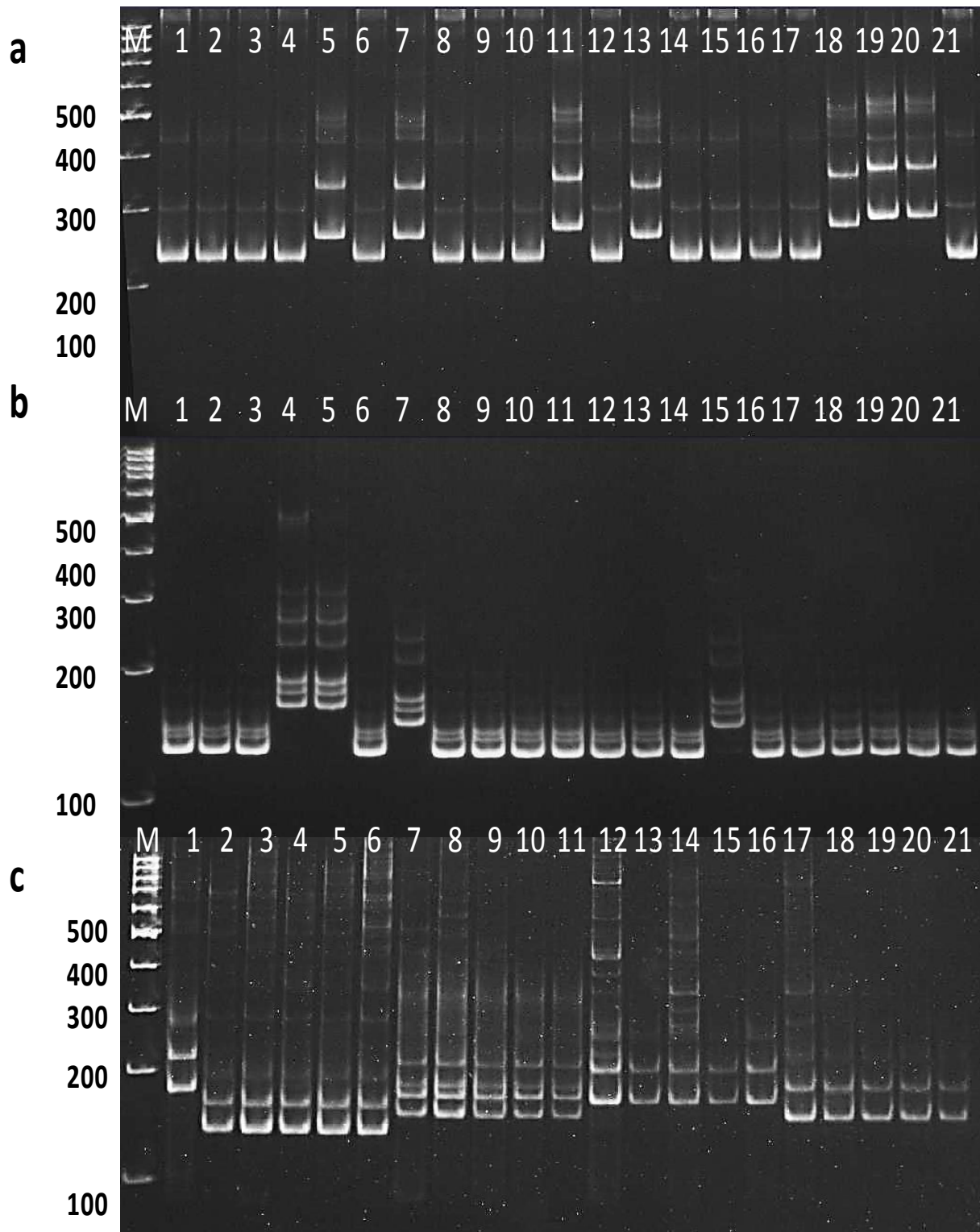


Рис. 2. Электрофореграммы продуктов амплификации
 М – маркер молекулярного веса (Fermentas, 100 bp), 1–21 – сорта и линии риса
 SSR-локусов R144 (a), R13 (b) и R481 (c) различных сортов риса

**Таблица 5. Оценка уровня полиморфизма SSR-локусов
у 96 сортов и линий риса**

Праимер	na	ne	I	Nei	PIC
RM1	7	4,2	1,5825	0,7643	0,7266
RM5	3	2,8	1,0546	0,6398	0,5630
RM13	6	1,5	0,7087	0,3132	0,3056
RM16	2	1,1	0,1391	0,0605	0,0565
RM19	3	1,1	0,2736	0,1189	0,1109
RM44	9	4,5	1,7582	0,7756	0,7451
RM105	2	1,0	0,1013	0,0408	0,0384
RM124	2	1,1	0,1788	0,0832	0,0739
RM125	2	1,1	0,1391	0,0605	0,0565
RM135	2	1,0	0,1047	0,0425	0,0384
RM144	6	1,5	0,7973	0,3499	0,3358
RM152	3	1,9	0,7221	0,4646	0,3720
RM162	6	3,2	1,3936	0,6859	0,6480
RM171	3	1,2	0,2910	0,1365	0,1250
RM212	3	1,4	0,4895	0,2810	0,2500
RM215	2	1,9	0,6560	0,4633	0,3546
RM235	3	2,0	0,8535	0,4915	0,4440
RM245	4	1,1	0,1734	0,0612	0,0582
RM248	4	1,3	0,5150	0,2495	0,2331
RM277	2	1,1	0,2046	0,0987	0,0905
RM317	2	1,0	0,1013	0,0408	0,0384
RM334	2	1,1	0,1425	0,0624	0,0565
RM338	2	1,2	0,2868	0,1528	0,1364
RM451	2	1,0	0,1047	0,0425	0,0384
RM455	2	1,1	0,1402	0,0612	0,0565
RM510	4	1,6	0,7100	0,3814	0,3381
Среднее	3,4	1,6	0,5239	0,2663	0,2419

na – количество аллелей на локус, ne – эффективное количество аллелей,
I – информационный индекс Шеннона, Nei – коэффициент разнообразия Нея,
PIC – индекс информативности маркеров.

Наиболее высокий индекс разнообразия наблюдали для образцов из Казахстана, но в целом выявлены сравнительно низкие значения генетического разнообразия образцов коллекции при использовании данного набора маркеров.

Полученные данные по аллельному состоянию SSR-локусов позволили составить генетический паспорт для всех изученных 96 образцов, включая 20 сортов Казахстана.

Таблица 6. Уровень полиморфизма SSR-локусов

у образцов риса по регионам

Регион	na	ne	I	Nei
CA	1,8	1,6	0,3958	0,2390
EA	1,8	1,6	0,4130	0,2596
WA	1,2	1,2	0,1315	0,0865
KZ	3,1	1,7	0,5209	0,2712
RU	1,8	1,4	0,3279	0,1869
EU	1,9	1,5	0,3952	0,2358

CA – Центральная Азия, EA – Восточная Азия, WA – Западная Азия,

EU – Европа, KZ – Казахстан, RU – Россия;

na – количество аллелей на локус, ne – эффективное количество аллелей,

I – информационный индекс Шеннона, Nei – Коэффициент разнообразия Нейя.

Результаты генотипирования образцов риса были использованы для филогенетического анализа. Анализ позволил выявить четкую кластеризацию образцов *O. sativa* subsp. *indica*, *O. sativa* subsp. *japonica* и гибридов TTL (рис. 3). Внутри образцов *O. sativa* subsp. *japonica* анализ не позволил выявить определенную связь кластеров с происхождением изученных образцов риса (рис. 3). Кластеризация осуществлена с помощью метода Neighbor joining.

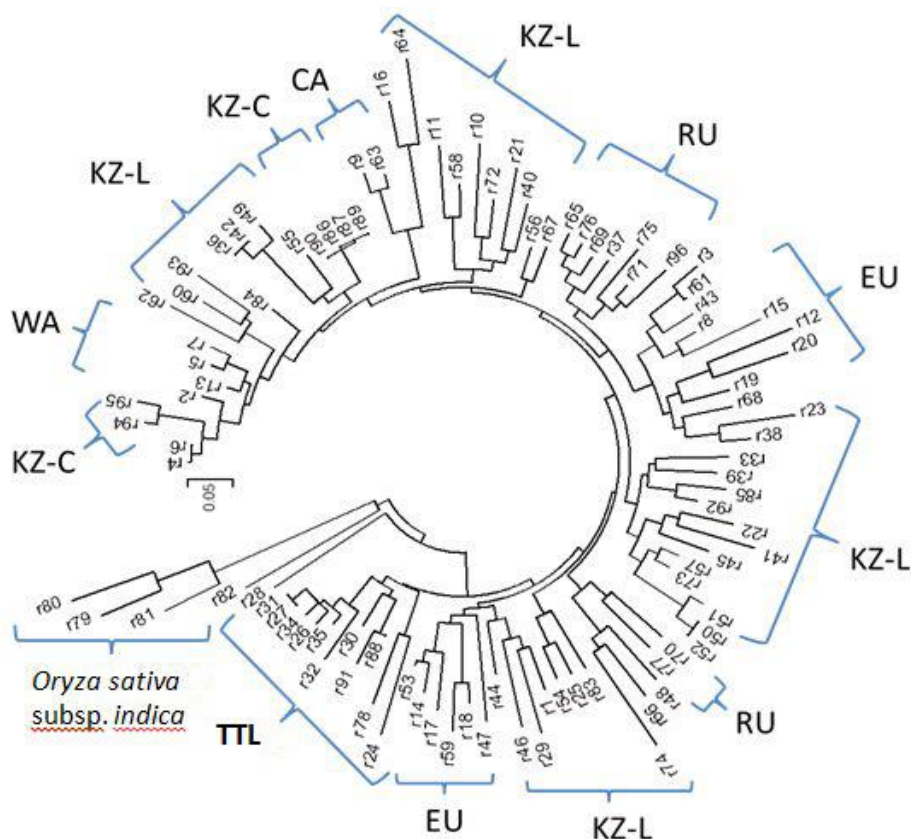


Рис. 3. Группировка 96 образцов риса по результатам SSR-анализа

EU – Европа, EA – Восточная Азия, WA – Западная Азия, CA – Центральная Азия,

RU – Россия; KZ-C – сорта Казахстана, KZ-L – линии Казахстана,

TTL – трехтаксонная линия

Анализ кластеризации 20 сортов Казахстана, зарегистрированных в реестре селекционных достижений Казахстана, показал, что они расположены практически во всех кластерах, что свидетельствует об их различном генетическом происхождении.

Заключение

Создана и изучена коллекция риса, включающая 96 сортов и линий различного происхождения, выращенная в Кызылординской области Казахстана в 2012–2103 гг. Получены данные по компонентам урожайности, качеству зерна и генетическому разнообразию входящих в нее образцов. Составлены генетические паспорта 20 коммерческих сортов риса Казахстана на основе анализа 26 полиморфных маркеров SSR. Полученные данные использованы для изучения особенностей взаимодействия «генотип–окружающая среда».

Литература

- Абугалиева С. И., Волкова Л. А. и др. Генотипирование коммерческих сортов яровой мягкой пшеницы Казахстана с использованием микросателлитных ДНК-маркеров // Биотехнология. Теория и практика. 2012. № 2. С. 35–45.
- Абугалиева С. И., Волкова Л. А. и др. ДНК-фингерпринтинг сортов сои Казахстана с использованием микросателлитных маркеров // Биотехнология. Теория и практика. 2013. № 3. С. 26–34.
- Ляховкин А. Г. Рис. Мировое производство и генофонд. СПб., 2005. 288 с.
- Методические указания по изучению мировой коллекции риса и классификатор рода *Oryza*. Л.: ВИР, 1982. 34 с.
- Методические указания по технологической оценке зерна образцов риса и классификатор технологических свойств риса. Л.: ВИР, 1984. 12 с.
- Мухина Ж. М. Создание внутригенных молекулярных маркеров риса для повышения эффективности селекционного и семеноводческого процессов // Научный журнал КубГАУ. 2010. Т. 67. № 3. С. 1–10.
- Подольских А. Н., Байбосынова С. М. Генетические ресурсы и ботанико-географические основы селекции риса // Сборник статей «Научные основы и практика рисоводства в Казахстане», Институт биологии и биотехнологии растений КН МОН РК. Алматы, 2012. С. 59–71.
- Подольских А. Н., Байбосынова С. М. и др. К характеристике биоразнообразия исходного материала для селекции риса в Казахстане // Сборник статей «Научные основы и практика рисоводства в Казахстане», Институт биологии и биотехнологии растений КН МОН РК. Алматы, 2012. С. 213–230.
- Delaporta S. L., Wood J., Hicks J. B. A plant DNA miniprep. Version II // Plant Molecular Biology Reports. 1983. V. 4. P. 19–21.
- McCouch S. R., Teytelman L. et al. Development of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.) // DNA Research. 2002. V. 9. № 6. P. 199–207.
- Payne R. W. (2009). "GenStat". Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics 1 (2): 255258.

- Temnykh S., Declerk G.* et al. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length-variation, transposon associations and genetic marker potential // *Genome Research*. 2001. V. 11. P. 1441–1452.
- Temnykh S., Park W. D.* et al. Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.) // *Theoretical and Applied Genetics*. 2000. V. 100. № 5. P. 697–712.
- Turuspekov Ye., Sato K.* et al. Genetic and agronomic characterization of rice collection from Kazakhstan // 2nd Conference of Cereal Biotechnology and Breeding. Budapest, 2013. P. 31.
- Van Berloo R.* GGT2.0: Versatile Software for visualization and analysis of genetic data // *Journal of Heredity*. 2008. V. 99. № 2. P. 232–236.
- Yeh F., Yang R., Boyle T., Ye Z.* Microsoft Windows-Based Freeware for Population Genetic Analysis Version 1.32 ed. Molecular Biology and Biotechnology Centre. University of Alberta, Edmonton. 2000. URL: http://www.ualberta.ca/~fyeh/popgene_download.html [сайт] (Дата обращения: 12.10. 2014)

УДК 633.16: 581.573.4

СКРИНИНГ ДАГЕСТАНСКИХ ЯЧМЕНЕЙ ПО УСТОЙЧИВОСТИ К СЕТЧАТОЙ И ТЕМНО-БУРОЙ ПЯТНИСТОСТЯМ*

А. В. Анисимова¹, Р. А. Абдуллаев²

¹Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: annaanis@mail.ru

²Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: abdullaev.1988@list.ru

Резюме

В лабораторных условиях изучали устойчивость 278 образцов ячменя из Дагестана к возбудителям сетчатой (*Pyrenophora teres* f. *teres* Drechsl.) и темно-бурой (*Cochliobolus sativus* Ito and Kurib.) пятнистостей. Устойчивостью к смеси изолятов *C. sativus* из северо-западной (Санкт-Петербург) популяции характеризовались 5 образцов, 17 отнесены к среднеустойчивым. Наиболее высокой устойчивостью к северо-западной популяции *P. teres* f. *teres* обладали семь форм, меньший уровень экспрессии признака выявлен у 21 образца; к популяции гриба из Дагестана (г. Дербент) устойчивость проявили 15 образцов; четыре формы устойчивы к обеим популяциям. Северо-западная и дагестанская популяции *P. teres* f. *teres* различаются по вирулентности и агрессивности. Групповой устойчивостью к возбудителям пятнистостей ячменя обладают три образца.

Ключевые слова: ячмень, устойчивость, сетчатая пятнистость, темно-бурая пятнистость.

SCREENING OF BARLEY FROM DAGHESTAN FOR NET AND SPOT BLOTCH RESISTANCE

A. V. Anisimova¹ & R. A. Abdullaev²

¹All-Russian Research Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia, e-mail: annaanis@mail.ru

²N. I. Vavilov All-Russian Research Institute of Plant Industry, St. Petersburg, Russia, e-mail: abdullaev.1988@list.ru

Summary

The resistance of 278 barley accessions from Daghestan to the agents of net blotch (*Pyrenophora teres* f. *teres* Drechsl.) and spot blotch (*Cochliobolus sativus* Ito and Kurib.) was analyzed under laboratory conditions. Five accessions were resistant to a mixture of *C. sativus* isolates from the northwestern (St. Petersburg) population, while 17 accessions were classified under the medium resistance category. Seven forms possessed the highest resistance to the northwestern population of *P. teres* f. *teres*, and a lower level of expression was identified in 21 accessions. Fifteen accessions manifested resistance to the Daghestan (Derbent) population of the fungus, and 5 forms were resistant to both populations. The north-western and Daghestan *P. teres* f. *teres* populations differed in virulence and aggressiveness. Three accessions possessed multiple resistance to the agents of net and spot blotches.

Keywords: barley, resistance, net blotch, spot blotch.

*Работа поддержана РФФИ (грант № 12-04-96503).

Введение

Дагестан – самый южный субъект Российской Федерации. На небольшой территории здесь сочетаются контрастные почвенно-климатические и ландшафтные условия: от равнинных прикаспийских впадин до высокогорий с вечными снегами, от полупустынной и пустынной резко континентальной северной сухостепной зоны до районов субтропического типа. Горы занимают более половины территории республики, средняя высота их составляет 960 м. Период вегетации длится 200–240 дней. В этих условиях сложились многочисленные виды дикорастущих растений, а в процессе многовекового возделывания возникли местные сорта сельскохозяйственных культур.

Ячмень издавна выращивается в Дагестане, причем в некоторых горных районах местные стародавние сорта (ландрасы) возделываются до сих пор благодаря засухоустойчивости, высоким пищевым качествам, экологической пластичности, продуктивности. С другой стороны, многие возделываемые в республике сорта склонны к полеганию, поражаются фитопатогенами и повреждаются фитофагами. Среди болезней наиболее вредоносны мучнистая роса и карликовая ржавчина. В отдельные годы может отмечаться сильное поражение посевов возбудителями головневых заболеваний и пятнистостями (сетчатой, темно-бурой, полосатой, ринхоспориозом).

В коллекции Всероссийского научно-исследовательского института растениеводства им. Н. И. Вавилова (ВИР) насчитывается 278 образцов культурного ячменя (*Hordeum vulgare* L.) из Дагестана, которые относятся к азербайджанско-дагестанской эколого-морфологической группе. Хотя первые образцы поступили в коллекцию еще в период экспедиционных сборов Н. И. Вавилова, достаточно полное комплексное изучение генетических ресурсов дагестанских ячменей не проводилось. Анализ адаптивного потенциала культивируемого ячменя по устойчивости к болезням является приоритетным научным направлением. К сожалению, сведения об адаптивной ценности дагестанских ячменей носят отрывочный характер.

Цель настоящей работы – в лабораторных условиях изучить устойчивость коллекционных образцов ячменя из Дагестана к гембиотрофным грибам – возбудителям сетчатой (*Pyrenophora teres* f. *teres* Drechsl.) и темно-бурой (*Cochliobolus sativus* Ito and Kurib.) пятнистостей.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили 278 образцов ячменя (200 – яровых, 77 – озимых, 1 – двуручка). Большинство образцов было собрано в экспедициях по Дагестану (1901–1981 гг.) преимущественно в горном территориальном округе республики. Сорта и селекционные линии представлены 40 образцами.

Оценку устойчивости к возбудителям сетчатой и темно-бурой пятнистостей проводили в двукратной повторности, используя метод

искусственной инокуляции отсеченных листьев проростков с применением бензимидазольной техники (Афанасенко, 1977; Тырышкин, Михайлова, 1993). Отрезки проростков ячменя длиной 3–3,5 см в возрасте 8–9 дней раскладывали в кюветы на стекло, обернутое фильтровальной бумагой, предварительно смоченной 0,004% раствором бензимидазола. Концы листьев закрепляли увлажненными в растворе ватными валиками.

Для инокуляции использовали смесь изолятов *Cochliobolus sativus*, выделенных из северо-западной (Санкт-Петербург) популяции патогена, в концентрации 20 000 конидий/мл. В нашем распоряжении были две популяции *Purenophora teres* f. *teres*: северо-западная и дагестанская (г. Дербент); для заражения отрезков использовали суспензию концентрацией 10 000 конидий/мл. В качестве контрольных образцов были выбраны восприимчивый к темно-бурой пятнистости сорт 'Пиркка' и устойчивая линия NDB 112; восприимчивый к сетчатой пятнистости сорт 'Харрингтон' и устойчивый образец CI 4207. Кюветы с инокулированными отрезками листьев накрывали стеклом и помещали на светоустановку под лампы дневного света с интенсивностью 3–5 тыс. люкс при температуре 20–22°C. Устойчивость к *P. teres* f. *teres* оценивали по шкале, предложенной А. Текауз (1985), где:

- 1 балл – точечные некрозы, без хлороза (высокая устойчивость);
- 2–4 балла – некротические коричневые пятна без хлороза или с небольшим хлорозом, не распространяющиеся по отрезку листа и ограниченные диаметром инфекционной капли – (устойчивость);
- 5–6 баллов – некротические коричневые пятна, распространяющиеся по отрезку листа, но медленнее, чем при оценке по баллу «7», с хлорозом (относительная устойчивость);
- 7 баллов – некротические пятна, распространяющиеся по отрезку листа, окруженные хлорозом (относительная устойчивость);
- 8 баллов – сливающиеся некротические пятна, окруженные сильным хлорозом (восприимчивость);
- 9 баллов – сильный некроз, распространяющийся по поверхности листа, окруженный хлорозом (восприимчивость);
- 10 баллов – некроз занимает весь отрезок листа, отмирание листа (высокая восприимчивость).

Учет реакции при заражении *Cochliobolus sativus* проводили по шкале, предложенной Т. Fetch, В. Steffenson (1999):

- 1–3 балла – небольшие некротические пятна, без хлороза или окруженные слабым хлорозом (устойчивость);
- 4–5 баллов – некротические пятна, окруженные хлорозом (относительная устойчивость);
- 6–7 баллов – сливающиеся некротические пятна, окруженные хлорозом (восприимчивость);
- 8–9 баллов – сильный некроз, распространяющийся по всему листу (сильная восприимчивость).

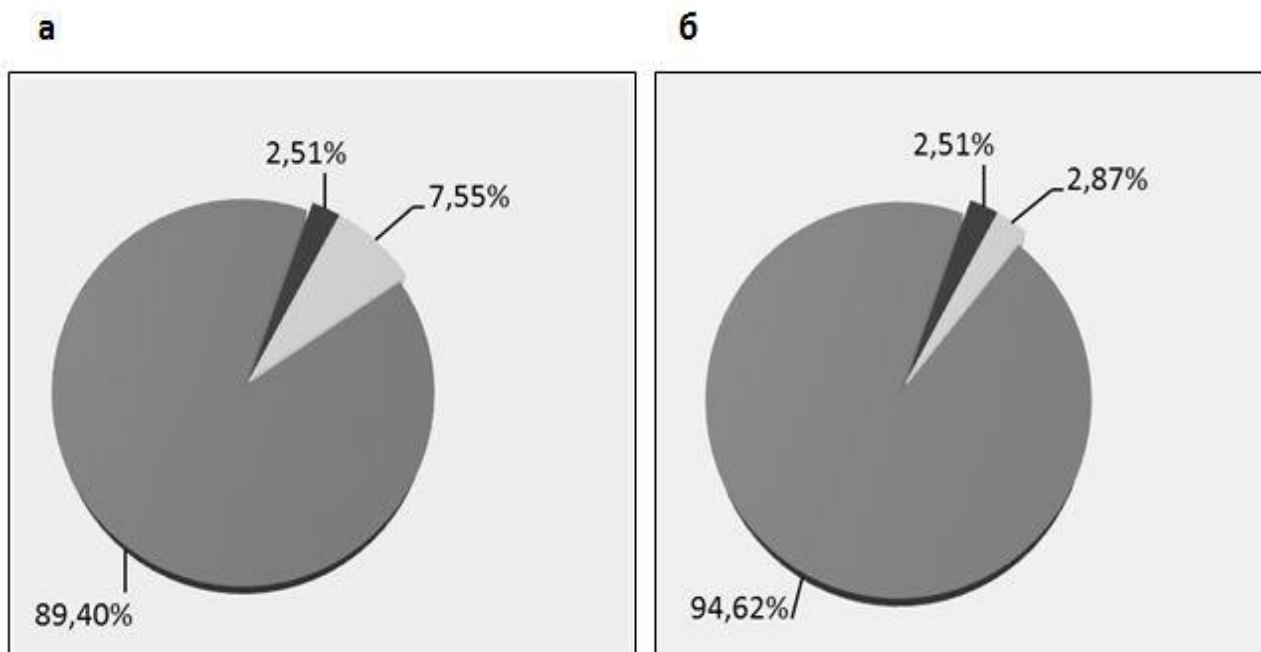
Результаты и обсуждение

В результате лабораторных исследований выделены *устойчивые* (тип реакции до 3,9 баллов) к возбудителю темно-бурой пятнистости (*Pyrenophora teres f. teres*) образцы: к-15008, к-15177, к-15185, к-21803, к-1030. К *среднеустойчивым* (тип реакции 4,0–5,5 баллов) отнесены образцы к-11458, к-15019, к-15181, к-15183, к-17910, к-18172, к-21763, к-21766, к-25067 (КНИИСХ 12/87 × ПФ 24), к-15037, к-17438, к-21772, к-21818, к-21806, к-23822, к-23825, к-30084 (ГБ-18 × Винер).

К северо-западной популяции *P. teres f. teres* *высокоустойчивы* (до 2,9 баллов) образцы к-13232, к-18025, к-18171, к-18180, к-21807, к-25616 (F8 к-3307 × Дагестанский), к-21760. К *устойчивым* (тип реакции 3,0 – 4,9 баллов) отнесены образцы к-13235, к-13496, к-13497, к-13991, к-15052, к-1030, к-16095, к-16377, к-17907, к-18173, к-15039, к-21816, к-23788, к-23819, к-23821, к-25615, к-14147, к-15056, к-17908, к-17928, к-25071 (КНИИСХ 11/1 × к-16887).

Образцы к-25071, к-23821, к-15052 и к-21760 устойчивы к обеим популяциям *P. teres f. teres*.

Высокую устойчивость (до 2,9 баллов) к популяции возбудителя сетчатой пятнистости (*Cochliobolus sativus*) из Дагестана проявили образцы к-15183, к-15037, к-21770, к-23821, к-15052, к-21745, к-21757. *Устойчивостью* (тип реакции 3,0 – 4,9 баллов) характеризовались образцы к-16095, к-21768, к-21773, к-25071 (КНИИСХ 11/1 × к-16887), к-23787, к-21760, к-30086 (ГБ-18 × ‘Винер’), к-30087 (ГБ-18 × ‘Винер’). Групповой устойчивостью к сетчатой и темно-бурой пятнистостям обладают три образца: к-1030, к-15037, к-15183.



Устойчивость коллекционных образцов ячменя из Дагестана к северо-западной (а) и дагестанской (б) популяциям *Pyrenophora teres f. teres*:

■ – высокоустойчивые, □ – устойчивые, ▒ – восприимчивые образцы

Многие образцы гетерогенны по изученным признакам. Десять гетерогенных по устойчивости к *C. sativus* образцов высеяли в теплице, на стадии третьего листа методом искусственной инокуляции отсеченных листьев оценили тип реакции растений на заражение грибом и отобрали наиболее устойчивые генотипы.

Результаты экспериментов свидетельствуют о различии двух популяций *Pyrenophora teres f. teres* по вирулентности и агрессивности. Так, образцы к-21760, к-25616, к-21816, к-21807, к-18180 устойчивы к северо-западной (тип реакции растений на заражение 2,9–4,9 баллов) и восприимчивы к дагестанской популяции патогена, что свидетельствует о дифференциальном взаимодействии паразита и хозяина. Как указывалось выше, лишь четыре образца слабо поражаются двумя популяциями гриба. У 34 образцов наблюдали различную экспрессию устойчивости. Например, образцы к-13232, к-18025, к-18171, к-18180, к-21807, к-25616 характеризовались высокой устойчивостью при заражении северо-западной популяцией *P. teres f. teres*, однако при инокуляции дагестанской популяцией патогена устойчивость была слабо выражена. Более агрессивной оказалась дагестанская популяция патогена (рисунок).

Выводы

В результате лабораторных исследований выделили устойчивые к сетчатой и темно-бурой пятнистостям образцы ячменя из Дагестана. Показано различие северо-западной и дагестанской популяций *Pyrenophora teres f. teres* по вирулентности и агрессивности.

Литература

- Афанасенко О. С. Лабораторный метод оценки устойчивости сортообразцов ячменя к возбудителю сетчатого гельминтоспориоза // С.-х. биология. 1977. Т. 12. № 2. С. 297–299.
- Тырышкин Л. Г., Михайлова Л. А. Наследование устойчивости к листовой пятнистости, вызываемой *Bipolaris sorokiniana*, сорта мягкой пшеницы 181-5 // Тр. по прикл. бот., ген. и сел. 1993. Т. 147. С. 35–39.
- Fetch T. G. Jr., Steffenson B. J. Rating scales for assessing infection responses of barley infected with *Cochliobolus sativus* // Plant Dis. 1999. V. 83. № 3. P. 213–217.
- Tekauz A. A numerical scale to classify reactions of barley to *Pyrenophora teres* // Canad. J. Plant Pathol. 1985. V. 7. № 2. P. 181–183.

УДК575.12:547.962:633.854

КОЛЛЕКЦИЯ ПОДСОЛНЕЧНИКА В ИССЛЕДОВАНИЯХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ФЕРТИЛЬНОСТИ ПЫЛЬЦЫ*

**И. Н. Анисимова¹, В. А. Гаврилова¹, Н. В. Алпатьева¹, Е. Б. Кузнецова¹,
Ю. И. Карабицина¹, В. Т. Рожкова²**

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства
им. Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: irina_anisimova@inbox.ru

² Кубанская опытная станция ВИР,
Краснодарский край, Гулькевичский район, п. Ботаника

Резюме

Показана роль генетической коллекции подсолнечника в исследованиях генетических механизмов супрессии признака цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС). Представленные в коллекции линии-восстановители фертильности характеризуются значительным генетическим разнообразием. Они были получены тремя различными путями: 1) введением генов *Rf* в генотипы автофертильных линий; 2) при самоопылении коммерческих гибридов иностранного происхождения; 3) в результате межвидовой гибридизации. Для выяснения особенностей структурно-функционального разнообразия генов восстановления фертильности пыльцы в работе используется комплексный сравнительно-генетический подход, включающий: молекулярное маркирование генотипов, гибридологический анализ; оценку полиморфизма *RFL-PPR*-генов и разработку молекулярных маркеров для их картирования. Получены данные, указывающие на возможное участие *RFL-PPR*-генов в контроле признака восстановления фертильности пыльцы у подсолнечника.

Ключевые слова: подсолнечник, *Helianthus annuus*, генетическая коллекция, линии, ЦМС, восстановление фертильности пыльцы, *RFL-PPR*-гены, молекулярные маркеры, гибридологический анализ

SUNFLOWER COLLECTION IN THE RESEARCH ON GENETIC MECHANISMS OF POLLEN FERTILITY RESTORATION

**I. N. Anisimova², V. A. GavriloVA², N. V. Alpatieva², E. B. Kuznetsova²,
Y. I. Karabitsina¹ & V. T. Rozhkova²**

¹N. I. Vavilov All-Russian Research Institute of Plant Industry,
St. Petersburg, Russia, e-mail: irina_anisimova@inbox.ru

²Kuban Experimental Station of the N. I. Vavilov All-Russian Research
Institute of Plant Industry, Russia

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 12-04-00329_а).

Summary

The role of the sunflower genetic collection in the studies of genetic mechanisms of cytoplasmic male sterility (CMS) suppression is demonstrated. The restorer lines presented in the collection are characterized by significant genetic diversity. They have been obtained by three different ways: 1) by introducing *Rf* genes into the genotypes of autofertile lines; 2) by self-pollination of commercial hybrids; 3) as a result of interspecific hybridization. In order to throw light on the diversity of pollen fertility restoration genes, a complex comparative genetic approach have been used. It includes molecular marking of genotypes, hybridological analysis, characterization of RFL-PPR genes' polymorphism, and development of molecular markers for their mapping. The data obtained indicate that RFL-PPR genes are involved in the control of pollen fertility restoration character in sunflower.

Keywords: sunflower, *Helianthus annuus*, genetic collection, lines, CMS, pollen fertility restoration, RFL-PPR genes, molecular markers, hybridological analysis

Введение

Генетические системы ЦМС – *Rf* (цитоплазматическая мужская стерильность – контролируемый ядерными генами *Rf* признак восстановления фертильности пыльцы) нашли широкое применение в селекции ряда сельскохозяйственных растений как основа для практического использования эффекта гетерозиса. Впервые ЦМС у подсолнечника была получена в результате межвидового скрещивания *Helianthus petiolaris* Nutt. и *H. annuus* L. (Leclercq, 1969). Этот тип ЦМС широко используется в селекции и носит название РЕТ1. К настоящему времени у подсолнечника описано 72 источника ЦМС, для восстановления фертильности пыльцы которых необходимо присутствие в геноме определенных генов *Rf*. Молекулярные исследования выявили, что мужская стерильность многих типов ЦМС подсолнечника связана с экспрессией новой открытой рамки считывания, *orfH522*, транскрибируемой вместе с геном *atp1*. Ген *orfH522* кодирует связанный с мембраной белок с молекулярной массой около 15 кДа, который присутствует во всех тканях мужски стерильных растений. Фертильный фенотип может быть восстановлен путем введения в генотип гибрида доминантных ядерных генов *Rf*, вызывающих специфическое снижение уровня ко-транскрипта *atp1-orfH522* в пыльниках в течение мейоза и сопутствующее снижение количества белка ORFH522 (Nizampatnam et al., 2009). По различным данным, для восстановления фертильности пыльцы форм подсолнечника с ЦМС РЕТ1 необходимо от одного до четырех генов.

Известно, что у высших растений согласованная работа геномов ядра и органелл регулируется обширным классом генов, кодирующих вовлеченные в антероградную/ретроградную регуляцию белки, которые характеризуются наличием тандемно повторяющихся последовательностей из 35 аминокислотных остатков – *pentatricopeptide repeats*, PPR (Lurin et al., 2004). У покрытосеменных растений семейство, кодирующее PPR-белки, насчитывает 400–600 генов. К этому классу относятся и все охарактеризованные к

настоящему времени гены восстановления фертильности пыльцы, за исключением *Rf2* кукурузы (Dahan, Mireau, 2013). Показано, что генетические факторы восстановления фертильности пыльцы у различных видов растений гомологичны и принадлежат к подсемейству *RFL-PPR- (Restorer-of-Fertility-Like-PPR)*, либо сцеплены с последовательностями, богатыми PPR-мотивами (Fujii et al., 2011). Полагают, что изменчивость их нуклеотидных последовательностей является источником различных аллелей, продукты которых способны к специфическому взаимодействию с продуктами экспрессии ассоциированных с фенотипом ЦМС абберрантных генов митохондрий (Andres et al., 2007; Rieseberg, Blackman, 2010; Fujii et al., 2011). Влияние PPR-белков на экспрессию признака ЦМС может быть обусловлено различными механизмами, включая деградацию и дестабилизацию РНК или ингибирование трансляции. Генетические механизмы признака восстановления фертильности пыльцы у подсолнечника, природа и число вовлеченных в его контроль генов до сих пор не известны. Это обусловлено сложностью получения источников генов восстановления фертильности, трудностями проведения генетического анализа признака, ограниченным разнообразием исследованного материала, а также методическими проблемами при идентификации продуктов генов *Rf*.

В настоящей статье рассмотрена роль созданной во Всероссийском научно-исследовательском институте растениеводства им. Н. И. Вавилова (ВИР) генетической коллекции подсолнечника (Gavrilova et al., 2014) в исследованиях структурно-функционального разнообразия генов восстановления фертильности пыльцы.

Материалы и методы

Материалом исследования служили линии генетической коллекции подсолнечника ВИР различного происхождения, среди них: 120 автофертильных линий, девять линий ЦМС на основе двух типов стерильности – *RET1* (ЦМС от *H. petiolaris*) и *RIG0* (ЦМС от дикого многолетнего вида *H. rigidus* (Cass.) Desf. и их фертильные аналоги. Наличие признака восстановления фертильности пыльцы проверено в разные годы путем парных скрещиваний автофертильных линий со стерильными тестерными линиями и индивидуальным анализом по потомству F_1 и F_2 .

Изученный материал репродуцирован на Кубанской опытной станции ВИР (КОС ВИР, Краснодарский край). Для оценки функционального состояния локуса *Rf1* ряда автофертильных линий в 2008–2011 гг. были проведены тест-скрещивания со стерильными линиями на основе ЦМС *RET1*. Признак восстановления фертильности пыльцы у растений F_1 и F_2 оценивали визуально.

Фракции ДНК получали из этиолированных проростков, используя оригинальный протокол, основанный на использовании СТАБ-буфера (Анисимова и др., 2010). ПЦР-анализ проводили в соответствии с протоколами, рекомендованными разработчиками праймеров.

Фрагменты экспрессированных последовательностей (EST), гомологичных генам восстановления фертильности пыльцы (Yue et al., 2010), отбирали из базы данных секвенированного генома сложноцветных (Compositae Genome Project, 2014). Праймеры, комплементарные последовательностям EST – предполагаемым гомологам генов *Rf*, конструировали с помощью программы Primer3Plus (The National Center..., 2012). Амплифицированные фрагменты были клонированы в векторе pAL-TA Vector (Евроген) и секвенированы на приборе ABI 3500xl в ЦКП «Геномные технологии и клеточная биология» (Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии). Выравнивание полученных последовательностей и их анализ проводили с помощью программы MEGA version 4.0.

Реактивы для ПЦР получены от фирмы «Диалат». Праймеры синтезированы ЗАО «Евроген» и ООО «Бигль».

Проверка соответствия наблюдаемого расщепления предлагаемой нами модели проводилась с помощью критерия Пирсона хи-квадрат (χ^2) (Лакин, 1990).

Результаты и обсуждение

Молекулярное маркирование линий. Представленные в генетической коллекции ВИР линии-восстановители фертильности были получены тремя различными путями: 1) путем введения генов *Rf* в генотипы автофертильных линий; 2) при самоопылении коммерческих гибридов иностранного происхождения; 3) отобраны в потомстве от самоопыления межвидовых гибридов, полученных при скрещивании линий ЦМС с многолетними дикими видами рода *Helianthus* L. различного уровня ploидности (Gavrilova et al., 2014).

Молекулярное маркирование изученных генотипов выполнено с использованием SCAR-маркеров HRG01 и HRG02 (Horn et al., 2003), STS-маркера STS115 (Yue et al., 2010), тесно сцепленных с ядерным локусом *Rf1*, а также STS-маркеров митохондриальных локусов *atp9* и *orfH522* (Schnabel et al., 2008), ассоциированных с ЦМС PET1. Оказалось, что 93 линии, восстанавливавших в разные годы фертильность пыльцы в скрещиваниях со стерильными (ЦМС PET1) линиями, обладают стерильной (PET1 или иного типа) цитоплазмой. Все они были выделены из коммерческих или из межвидовых гибридов. Таким образом, митохондриальный маркер *orfH522*, по наличию которого идентифицируют цитоплазмону PET1 типа, может служить индикатором присутствия в генотипе гена *Rf1*.

Линии, у которых с помощью молекулярных маркеров и генеалогического анализа идентифицирована стерильная (PET1) цитоплазма (Анисимова и др., 2011), рекомендованы в качестве модельных объектов для выяснения молекулярных механизмов ядерно-цитоплазматических взаимодействий, определяющих феномен восстановления фертильности форм с

ЦМС. Традиционно для выявления в генотипе генов, восстанавливающих фертильность, и изучения особенностей их экспрессии проводят тест-скрещивания с линиями ЦМС и анализируют растения F_1 . Автофертильные линии-восстановители со стерильной цитоплазмой сочетают в одном генотипе вызывающие мужскую стерильность абберантные митохондриальные гены и супрессирующие их ядерные факторы Rf в гомозиготном состоянии. При реализации данного подхода для выявления и оценки характера экспрессии генов Rf исключается необходимость проведения скрещиваний. Кроме того, линии несут гены в гомозиготном состоянии, что предпочтительнее для такого рода исследований ввиду возможного влияния межallelных взаимодействий на проявление признака у форм с гибридным геномом.

Наследование признака восстановления фертильности пыльцы в межлинейных скрещиваниях. В 2011–2013 гг. 16 гибридных комбинаций F_1 от скрещиваний линий ВИР109А и ВИР116А (ЦМС РЕТ1) с автофертильными линиями, различавшимися по наличию молекулярных маркеров гена $Rf1$ и типу цитоплазмона (фертильный, ЦМС РЕТ1 или ЦМС Х), были проанализированы по признаку восстановления фертильности пыльцы в различных климатических условиях (Краснодарский край, Ленинградская и Псковская области). Признак восстановления фертильности пыльцы стабильно проявлялся в одних и тех же комбинациях скрещиваний и отсутствовал в других независимо от условий выращивания (табл. 1). Линии, у которых тип цитоплазмы определен как фертильный или Х, за исключением ВИР740, не восстанавливали мужскую фертильность при скрещивании с линией ВИР116А. В то же время все линии на основе ЦМС РЕТ1 восстановили фертильность пыльцы в скрещиваниях с тестерами ВИР109А и ВИР116А.

Таблица 1. Результаты тест-скрещиваний линий подсолнечника с ЦМС с автофертильными линиями

№ п/п	Материнская линия ЦМС (РЕТ1)	Отцовская линия		Фертильность растений F_1
		название	тип цитоплазмона	
1	ВИР116А	ВИР195, ВИР364, ВИР365, ВИР558, ВИР729, RIL80, RIL130	ЦМС РЕТ1	F
2	»	ВИР210	ЦМС РЕТ1 или Х	F
3	»	ВИР740	ЦМС Х или фертильный	F
4	»	ВИР160, ВИР211, ВИР366, ВИР387	ЦМС Х или фертильный	S
5	»	ВИР371	фертильный	S
6	ВИР109А	ВИР364, ВИР558	ЦМС РЕТ1	F

Примечание: F – растения F_1 мужски фертильные
S – растения F_1 мужски стерильные.

Для выяснения характера наследования восстановления фертильности пыльцы изучили проявление признака у растений F_2 от скрещиваний линий ВИР109А и ВИР116А (ЦМС РЕТ1) с автофертильными линиями, предполагаемыми донорами гена *Rf1* ВИР210, ВИР365, ВИР558 и RIL130. Характер расщепления в F_2 был различен (моногенный или дигенный) в зависимости от комбинации скрещивания (табл. 2). Полагают, что за признак восстановления фертильности пыльцы форм с ЦМС РЕТ1 отвечают не менее двух генов, один из которых присутствует в генотипах линий закрепителей стерильности и восстановителей фертильности, а второй ген – *Rf1* – должен быть введен из линии-восстановителя (Horn et al., 2003). Однако полученные нами данные указывают на более сложный характер генетического контроля признака. Большинство использованных в скрещиваниях автофертильных линий обнаружили моногенное отличие от материнской линии ЦМС ВИР116А по признаку восстановления фертильности, тогда как комбинация с линией ВИР210 расщеплялась в F_2 по двум локусам. Интересно, что линии ВИР365, ВИР558 и RIL130 обладают стерильной РЕТ1 цитоплазмой, а линия ВИР210, по данным молекулярного анализа, имеет цитоплазмону РЕТ1 либо Х типа.

Таблица 2. Анализ расщепления второго поколения межлинейных гибридов подсолнечника по признаку восстановления фертильности пыльцы ЦМС РЕТ1

№ п/п	Гибридная комбинация	Число растений	Фактическое расщепление		Теоретически ожидаемое расщепление	χ^2
			фертильные	стерильные		
1*	ВИР109 × ВИР558	133	109	24	3 : 1	3,43
2*	ВИР116 × RIL130	59	43	16	3 : 1	0,14
3*	ВИР116 × ВИР365	93	77	16	3 : 1	3,01
4**	ВИР116 × ВИР365	34	26	8	3 : 1	0,07
5***	ВИР116 × ВИР210	43	26	17	9 : 7	0,31

При $P < 0,05$ $\chi^2 = 3,84$

*Краснодарский край, Кубанская ОС ВИР, 2013 г.

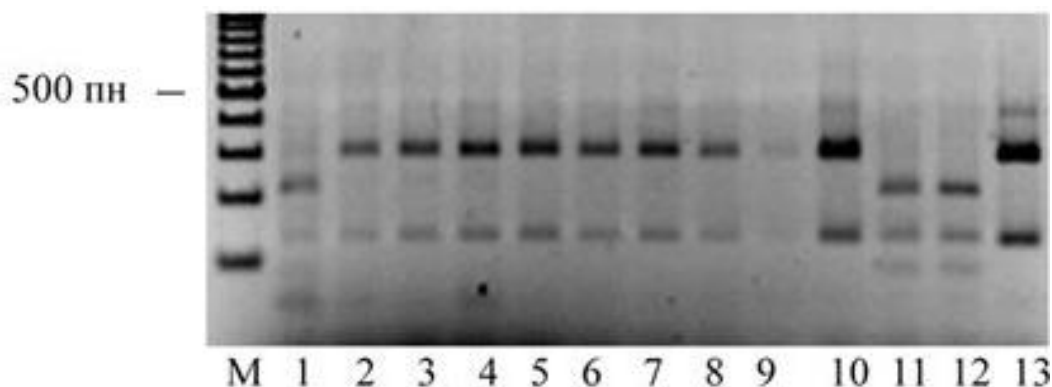
**Ленинградская область, Пушкинский филиал ВИР, 2013 г.

***Ленинградская область, Пушкинский филиал ВИР, 2014 г.

Полиморфизм гомологов RFL-PPR-генов. Для проверки гипотезы о принадлежности генов восстановления фертильности пыльцы подсолнечника к семейству *RFL-PPR* у линий генетической коллекции, различавшихся по аллельному состоянию локуса *Rf1*, изучен полиморфизм восьми геномных фрагментов, гомологичных известным генам *Rf*. Секвенированные фрагменты

имели длину от 274 до 1167 пн, содержали два или три PPR-мотива и характеризовались межлинейным полиморфизмом.

У всех проанализированных генотипов фрагмент QHL12D20 существенно отличался от референсного фрагмента EST *H. paradoxus* Heiser (однолетний дикий вид гибридного происхождения): в нем обнаружено 6–8 нуклеотидных замен. В последовательностях фрагментов QHG11C10 и QHL12D20 обнаружены интроны длиной соответственно 80 и 628–635 пн. Интрон фрагмента QHL12D20 содержит два инвертированных повтора длиной примерно 300 пн, представляющих комплементарный палиндром. По литературным данным (Strasburg et al., 2011), фрагмент QHL12D20 кодирует белок АНВР-1В, связанный с адаптивными свойствами растений и характеризуется гомологией последовательности транскрипционного фактора семейства bZIP арабидопсиса. Нуклеотидные последовательности фрагмента QHL12D20 девяти линий (ЦМС и восстановителей фертильности) депонированы в базу данных GenBank (NCBI) под номерами KJ450920–KJ450928 (GenBank, 2014).



Электрофоретические профили фрагментов, полученных при обработке ампликона B20M13 рестриктазой *RsaI*

1 – ВИР704, 2 – ВИР735, 3 – ВИР763, 4 – ВИР764, 5, 6 – ВИР767, 7 – ВИР768, 8, 9 – ВИР772, 10 – ВИР778, 11, 12 – ВИР801, 13 – ВИР369; 2-10 – вариант B20M13/*RsaI*_1, 1, 11, 12 – вариант B20M13/*RsaI*_2.

На основе анализа полиморфизма двух гомологов *RFL-PPR*-генов – QHL12D20 и QHB20M13 – разработаны CAPS-маркеры (L12D20/*HaeIII* и B20M13/*RsaI*).

В изученной выборке генотипов идентифицированы два варианта интрона QHL12D20, различающиеся длиной (за счет инсерций/делеций) и заменами единичных нуклеотидов. В дистальной и проксимальной частях первого варианта интрона в зеркальной ориентации находятся два сайта рестрикции *HaeIII*. В последовательности второго варианта интрона в одном из сайтов обнаружена замена единичного нуклеотида. Кодированные последовательности QHL12D20 (540 пн) также были дифференцированы на две группы. Линии с идентичными вариантами интрона оказались близкими и по

структуре экзона. Частота полиморфных сайтов (SNP) в экзонах QHL12D20 составила 3,7% (Анисимова и др., 2014).

Фрагмент QNB20M13 автофертильной линии ВИР558 был идентичен референсному фрагменту линии-восстановителя RHA801, тогда как у линии ЦМС ВИР116А отличался от референсного единичными несмысловыми заменами. Полиморфная позиция нуклеотида 129 (SNP) в амплифицированной последовательности у линии ВИР116А совпала с сайтом узнавания рестриктазой RsaI.

В выборках автофертильных линий с различными типами цитоплазмона (стерильным PET1, фертильным или стерильным X, по Анисимовой и др., 2011) наблюдали два типа спектров фрагментов рестрикции ампликона L12D20 рестриктазой HaeIII и два типа спектров рестрикции ампликона B20M13 рестриктазой RsaI (табл. 3, рисунок), обозначенные как варианты 1 и 2. В группе линий со стерильным цитоплазмом PET1 (носители доминантного аллеля *Rf1*) встречаемость варианта L12D20/HaeIII_1 оказалась намного выше встречаемости варианта L12D20/HaeIII_2 (19 и 6). Аналогичная картина наблюдалась и в распределении маркеров B20M13/RsaI: среди 27 автофертильных линий со стерильной цитоплазмой 25 генотипов имели вариант 1 и лишь две линии обладали вариантом 2.

Таблица 3. Распределение полиморфных вариантов фрагментов *RFL-PPR*-генов в выборках автофертильных линий подсолнечника

Группа линий (тип цитоплазмона)	Число линий с вариантами L12D20/HaeIII		Число линий с вариантами B20M13/RsaI	
	1	2	1	2
Автофертильные (S PET1)	19	6	25	2
Автофертильные (F или S(X))	13	7	6	8

Примечание: S – цитоплазмон стерильного типа;

F – фертильный цитоплазмон (по Анисимовой и др., 2011).

Линии ЦМС и их фертильные аналоги (генотип *rf1rf1*) были идентичны по профилям рестрикции ампликонов (характеризовались вариантами L12D20/HaeIII_2 и B20M13/RsaI_2). Поскольку автофертильные линии со стерильным цитоплазмом PET1 типа являются носителями доминантного аллеля в локусе *Rf1*, можно предположить, что полиморфизм изученных фрагментов *RFL-PPR*-генов связан с функциональным состоянием локуса *Rf1*.

В F₁ варианты CAPS-маркеров L12D20/HaeIII и B20M13/RsaI наследовались кодоминантно. Анализ совместного наследования сцепленных с локусом *Rf1* молекулярных маркеров и полиморфных вариантов *RFL-PPR*-генов в расщепляющихся гибридных комбинациях позволит установить возможное сцепление генов, кодирующих *PPR*-белки, с локусами,

участвующими в контроле признака восстановления фертильности пыльцы подсолнечника.

Заключение

Созданная в ВИР генетическая коллекция подсолнечника является идеальной базой для изучения генетических механизмов признака восстановления фертильности пыльцы. Линии коллекции были получены путем введения генов *Rf* в генотипы автофертильных линий, при самоопылении коммерческих гибридов иностранного происхождения, либо в результате межвидовой гибридизации. Их уникальность подтверждена с помощью методов классической и молекулярной генетики. В настоящей работе впервые изучен полиморфизм гомологов *RFL-PPR*-генов и продемонстрирована связь этого полиморфизма с функциональным состоянием локуса *Rfl*. Полиморфные варианты гомологов *RFL-PPR*-генов перспективны для использования в качестве маркеров в селекционно-генетических (генотипирование родительских линий гибридов, определение гибридности семян) и эволюционных исследованиях подсолнечника. Автофертильные линии-восстановители, у которых с помощью молекулярных маркеров и генеалогического анализа идентифицирована стерильная цитоплазма, могут служить модельными объектами для выяснения молекулярных механизмов ядерно-цитоплазматических взаимодействий, супрессирующих проявление признака ЦМС.

Авторы признательны А. Г. Пинаеву (Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии) за помощь в определении нуклеотидных последовательностей гомологов *RFL-PPR*-генов.

Литература

- Анисимова И. Н., Алпатьева Н. В., Тимофеева Г. И. Скрининг генетических ресурсов растений с использованием ДНК-маркеров: основные принципы, выделение ДНК, постановка ПЦР, электрофорез в агарозном геле. Методические указания. СПб, 2010. 30 с.
- Анисимова И. Н., Гаврилова В. А. и др. Генетическое разнообразие источников генов восстановления фертильности пыльцы подсолнечника // Докл. РАСХН. 2011. № 3. С. 6–11.
- Анисимова И. Н., Алпатьева Н. В. и др. Полиморфизм гомологов *RFL-PPR*-генов у линий подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) с различной способностью к супрессии фенотипа цитоплазматической мужской стерильности // Генетика. 2014. Т. 50. № 7. С. 814–824.
- Лакин Г. Ф. Биометрия. М., 1990. 351с.
- Andres C., Lurin C., Small I. D. The multifarious roles of PPR proteins in plant mitochondrial gene expression // *Physiol. Plant.* 2007. V. 129. № 1. P. 14–22.

- Compositae Genome Project* (электронный ресурс); офиц. сайт. UC Davis Genome Center. URL: <http://www.cgpdb.ucdavis.edu> [сайт] (дата обращения: 15.01.2012; дата обновления: 11.07.2014).
- Dahan J., Mireau H. The Rf and Rf-like PPR in higher plants, a fast-evolving subclass of PPR genes // *RNA Biology*. 2013. V. 10. № 9. P. 1469–1476.
- Fujii S., Bond Ch. S., Small I. D. Selection patterns on restorer-like genes reveals a conflict between nuclear and mitochondrial genomes throughout angiosperm evolution // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2011. V. 108. № 4. P. 1723–1728.
- Gavrilova V. A., Rozhkova V. T., Anisimova I. N. Sunflower genetic collection at the Vavilov Institute of Plant Industry // *Helia*. 2014. V. 37. № 60. P. 1–16.
- GenBank* (электронный ресурс); офиц. сайт. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide> [сайт] (дата обращения 14.02.2014).
- Horn R., Kusterer B., Lazarescu E., Prufe M., Friedt W. Molecular mapping of the *Rf1* gene restoring fertility in PETI- based F₁ hybrids in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // *Theor. Appl. Genet.* 2003. V. 106. № 4. P. 599–606.
- Leclercq P. Une sterilité cytoplasmique chez le tournesol // *Ann. Amélior. Plant.* 1969. V. 19. № 3. P. 99–106.
- Lurin C., Andres C. et al. Genome-wide analysis of Arabidopsis pentatricopeptide repeat proteins reveals their essential role in organelle biogenesis // *Plant Cell*. 2004. V. 16. № 8. P. 2089–2103.
- Nizampatnam N. R., Doodhi H. et al. Expression of sunflower cytoplasmic male sterility-associated open reading frame, *orfH522* induces male sterility in transgenic tobacco plants // *Planta*. 2009. V. 4. № 229. P. 987–1001.
- Rieseberg L.H., Blackman B.K. Speciation genes in plants // *Ann. Bot.* 2010. V. 106. № 3. P. 439–455.
- Schnabel U., Engelmann U., Horn R. Development of markers for the use of the PEF1 cytoplasm in sunflower hybrid breeding // *Plant Breed.* 2008. № 6. P. 541–652.
- Strasburg J. L., Kane N. C. et al. Effective population size is positively correlated with levels of adaptive divergence among annual sunflowers // *Mol. Biol. Evol.* 2011. V. 28. № 5. P. 1569–1580.
- The National Center for Biotechnology Information* (электронный ресурс); офиц. Сайт. *Wageningen Bioinformatics Webportal* (электронный ресурс); офиц. сайт. Wageningen. URL: <http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/> [сайт] (дата обращения: 15.01.2012).
- Yue B., Vick B. A., Cai X., Hu J. Genetic mapping for the *Rf1* (fertility restoration) gene in sunflower (*Helianthus annuus* L.) by SSR and TRAP markers // *Plant Breed.* 2010. V. 129. № 1. P. 24–28.

УДК 632.78

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ КУКУРУЗЫ И УСТОЙЧИВОСТЬ К КУКУРУЗНОМУ МОТЫЛЬКУ*

В. Г. Гаркушка¹, А. Н. Фролов², И. В. Грушевая²

¹Научно-производственное объединение «КОС-МАИС»,

Краснодарский край, Россия, e-mail: kos_mais@mail.kuban.ru

²Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений,

Санкт-Петербург, Россия, e-mail: vizrspb@email.ru

Резюме

Кукуруза, занявшая лидирующие позиции в мире как по урожайности, так и по валовому производству зерна, – культура многоцелевого назначения. Современная ее селекция ориентирована на создание гибридов пищевого назначения, эффективное выращивание которых особенно нуждается в высокой устойчивости к вредным организмам. Среди них центральное место занимает кукурузный мотылек.

Ключевые слова: кукуруза, генетическое разнообразие, кукурузный мотылек.

GENETIC DIVERSITY OF MAIZE AND ITS RESISTANCE TO EUROPEAN CORN BORER

V. G. Garkushka¹, A. N. Frolov² & I. V. Grushevaya²

¹ KOS-MAIS Research & Production Association,

Krasnodar Region, Russia, e-mail: kos_mais@mail.kuban.ru

² All-Russian Research Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia,

e-mail: vizrspb@email.ru

Summary

With its worldwide leading positions in both yield per hectare and total grain production, maize serves as a crop of multipurpose use. Today, maize breeding efforts are targeted inter alia at the development of hybrids for food purposes, whose cultivation specifically requires high resistance to harmful organisms. Among the latter, European corn borer occupies the central place.

Keywords: maize, genetic diversity, European corn borer.

Введение

Кукуруза – культура многоцелевого использования, отличающаяся высоким разнообразием по морфологическим, эколого-физиологическим и иным признакам, включая свойства устойчивости, оцениваемые с помощью тех или иных шкал (например, Фролов, 1993). Благодаря потенциалу гетерозиса, достижениям селекции и биотехнологии, кукуруза в начале XXI века вышла на первое место в мире по производству зерна, опередив основные зерновые культуры Старого Света – рис и пшеницу (Тройер, 2009; Гарькавый, Раева, 2011).

* Работа выполнялась при частичной поддержке РФФИ (грант № 12-04-00552).

Хотя мировая селекция кукурузы в основном сосредоточена в гигантских международных корпорациях (Pioneer, Syngenta, Monsanto), отдельные локальные селекционные центры, ориентированные на свой регион и страну, продолжают демонстрировать высокую конкурентоспособность своей продукции. Так, Научно-производственное объединение (НПО) «КОС-МАИС», расположенное на востоке Краснодарского края, стабильно выпускает в производство в среднем по одному новому гибриду в год. Селекционные работы по кукурузе здесь ведутся в самых разных направлениях, в том числе для возделывания на зерно в южных регионах России, характеризующихся дефицитом влаги, для северных регионов с недостатком тепла, а также на пищевые цели (белозерная, сахарная, высоколизиновая). Успешность селекционных работ определяется постоянно растущими требованиями к родительским формам гибридов. Рабочая коллекция, насчитывающая более 3500 семей и линий, постоянно растет за счет новых образцов. В частности, при создании белозерных гибридов широко использовались местные сорта Северного Кавказа и Закавказья, бывшей Югославии. Основным методом селекции послужило улучшение линий в пределах сестринских скрещиваний, что позволяет увеличить семенную продуктивность самой линии, а также сохранить и улучшить ее комбинационную способность по зерну к комплементарной группе.

Селекционная работа с белозерной кукурузой в НПО «КОС-МАИС» осуществляется с самого начала образования учреждения, то есть с 1993 г. Первым районированным сортом стала 'Урванская белая' (допущена к использованию с 1999 г.), а в 2004 г. был передан для госсортоиспытания и экспертной оценки гибрид 'Кубанский пищевой 450МВ', который уже отличался более высокой продуктивностью: в засушливом 2003 г. в опытах НПО он дал 40,3 ц/га, 'Урванская белая' – 27,8 ц/га; в благоприятном 2004 г. – соответственно 100,2 и 51,1 ц/га. В настоящее время в производство внедряются новые белозерные гибриды: более скороспелый 'Жемчуг Кубани СВ' и среднеспелый 'Белый тигр СВ'. Из муки пищевой белозерной кукурузы выпекаются самые разные хлебобулочные изделия, а из крупы производятся каши и плов. Продовольственная белозерная кукуруза в России – по существу новая сельскохозяйственная культура, которая призвана занять важное место в питании человека. Последние годы в НПО «КОС-МАИС» активно занимаются возрождением высоколизиновой кукурузы, которая является не только высококачественным кормом для домашних животных и птицы, но и позволит производить новые виды хлебобулочных, кондитерских и макаронных изделий.

К сожалению, высоколизиновая кукуруза гораздо сильнее обычной поражается болезнями и повреждается вредителями. В том числе и поэтому работа в области создания менее повреждаемых и поражаемых вредными организмами гибридов приобрела в НПО приоритетное значение.

Несмотря на широкое использование в США генетически модифицированной кукурузы (Troyer, 2009), интерес к природной устойчивости и в этой стране не угас (Abel et al., 2000; Bohn et al., 2003). Для

России селекционная работа с кукурузой, направленная на усиление ее природной устойчивости к кукурузному мотыльку – *Ostrinia nubilalis* Hbn. – в связи с запретом на выращивание ГМО еще более актуальна.

Материалы и методы

Оценка селекционного и коллекционного материала на устойчивость к кукурузному мотыльку проводилась согласно известным подходам (Фролов, 2008), главным образом по степени поврежденности листьев гусеницами первого поколения по балловой шкале 1–9 (Guthrie et al., 1960), модифицированной W. P. Williams и F. M. Davis (1984). Испытания гибридов кукурузы проводили в блоках, организованных по группам ФАО, на делянках площадью 10 м² каждая в 3–4 кратной повторности; посев осуществляли в конце апреля, уборку – в конце августа – сентябре, сформированная густота составляла 40–60 тыс. растений/га в зависимости от скороспелости гибридов в блоках. Помимо степени повреждения листьев кукурузным мотыльком (балл) учитывали: даты цветения початков, ломкость стеблей (%), полегание (%), уборочную влажность зерна (%) и урожайность зерна (ц/га) при 14% влажности. Параллельно на производственных посевах кукурузы НПО «КОС-МАИС» и соседствующих полях научного севооборота Кубанской опытной станции (КОС) ВИР ежегодно проводили периодические учеты плотности и смертности кукурузного мотылька на всех стадиях развития насекомого (яйца, гусеницы, куколки и имаго) согласно ранее описанным методикам (Фролов, Малыш, 2004; Фролов, 2006).

Результаты и обсуждение

Критерием поврежденности листьев кукурузы гусеницами кукурузного мотылька широко пользуются при отборах кукурузы на устойчивость к первому поколению вредителя в зоне двух генераций (Фролов, 2008). Полученные нами результаты подтверждают, что степень поврежденности листьев высоко достоверно характеризует различия между генотипами по плотности гусениц. Анализ многолетних данных обнаружил высоко достоверную ($r = -0,78$; $p = 0,00005$) связь между поврежденностью листьев растений и смертностью гусениц первого поколения, измеренной в логарифмической шкале значений $k = \log N_1 - \log N_2$, где N_1 и N_2 – оценки плотностей отродившихся из яиц и питающихся на растениях гусениц IV–V возрастов соответственно (рис. 1).

Хотя численность кукурузного мотылька обнаруживает широкий диапазон колебаний в многолетнем аспекте (рис. 2), полученные за 20 лет наблюдений материалы свидетельствуют, что плотность насекомых первого поколения, достигавшую или превышавшую пороговые значения для зерновой кукурузы, равные в среднем одной гусенице или 13 яйцам на 1 растение

(Фролов, 2006), отмечали на протяжении 11 лет из 20, по крайней мере, на 50% учетных образцов кукурузы.

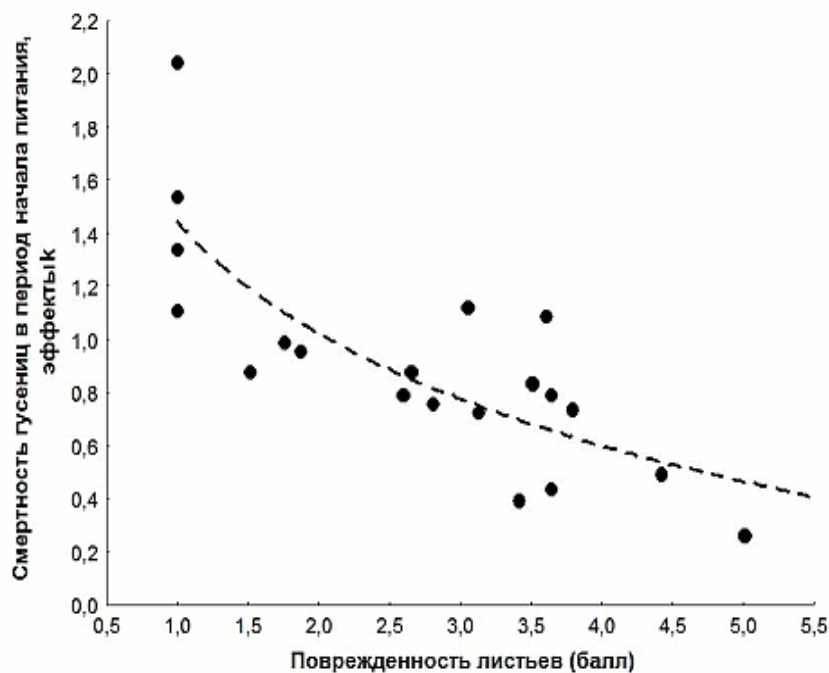


Рис. 1. Смертность гусениц первого поколения в начальный период их питания на растении и степень поврежденности листьев кукурузы (1994–2013 гг.)

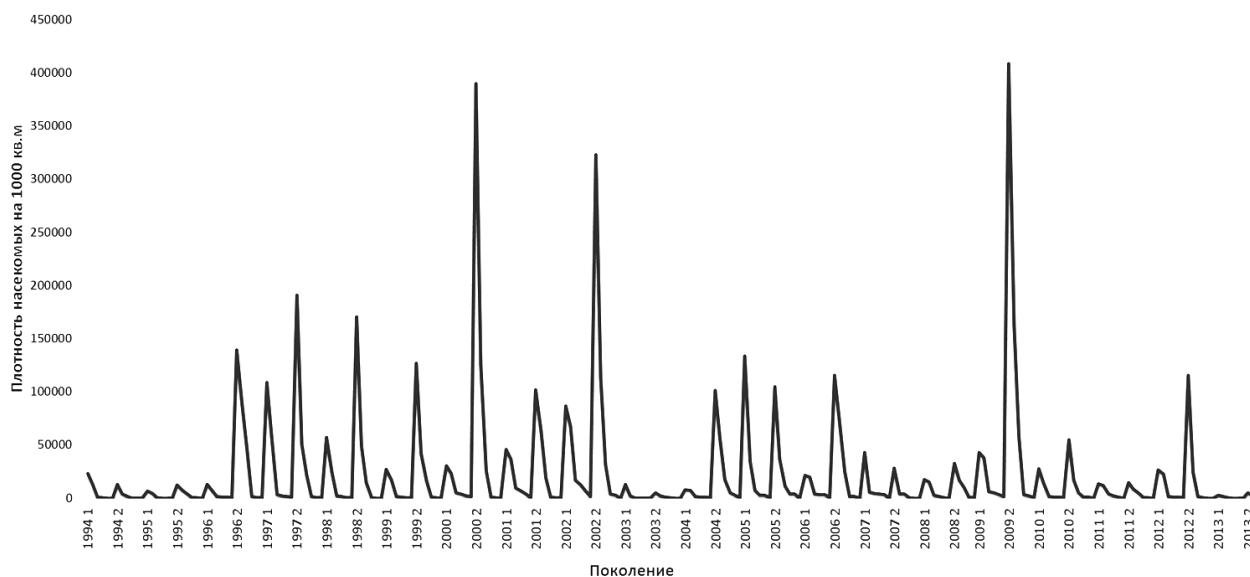


Рис. 2. Динамика плотности (периоды развития от яйца до имаго) локальной популяции кукурузного мотылька на посевах кукурузы Кубанской опытной станции ВИР (Гулькевичский р-н Краснодарского края, 1994–2013 гг.)

При этом в годы вспышек (5 лет из 20) поврежденность растений вредителем оказывала не просто статистически достоверное, но определяющее воздействие на вариацию урожайности зерна гибридов в испытаниях, а также на пораженность другими патогенами, в частности стеблевыми гнилями (рис. 3, таблица).

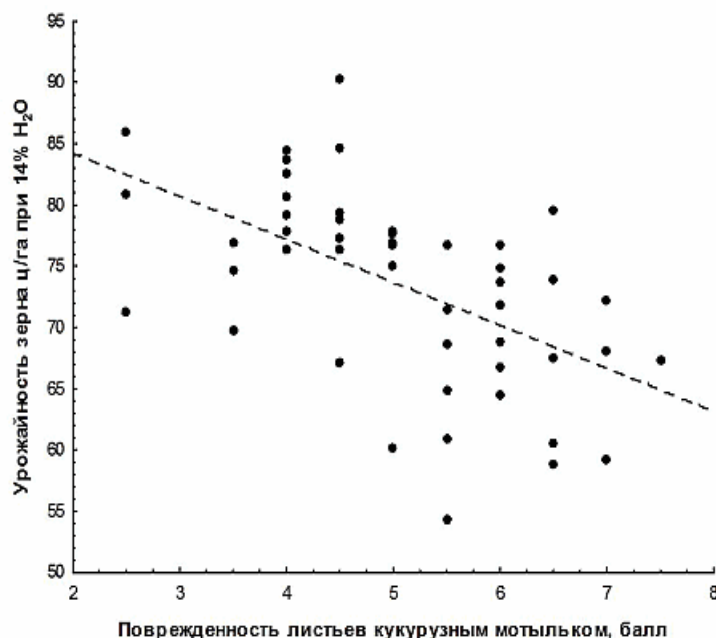


Рис. 3. Урожайность гибридов кукурузы в испытаниях и ее связь с поврежденностью растений кукурузным мотыльком первого поколения (Научно-производственное объединение «КОС-МАИС», 2010 г.).

Устойчивость растений к одному патогену далеко не всегда обеспечивает требуемый уровень защиты культуры от потерь урожая, вызываемого комплексом патогенов.

Множественный регрессионный анализ вариации паразитарной ломкости стеблей, принятой в качестве зависимой переменной ($r=0,646$; $F=33,02$; $p < 0,00001$)

(Научно-производственное объединение «КОС-МАИС», 2010 г.)

Фактор	Регрессия	Ошибка регрессии	Критерий Стьюдента	p
Повреждение листьев	1,35	0,235	5,74	0,0001

Объединенные в консортные патологические системы патогены характеризуются неаддитивностью значений вредоносности отдельных видов. Более того, видовой состав экологических комплексов вредных организмов существенно меняется в зональном плане, а также в онтогенезе поражаемого растения (Иващенко и др., 2000; Иващенко, 2003). В этой связи, очевидно, что

селекция на групповую и комплексную устойчивость к вредителям и болезням – весьма сложная задача.

Иммунологические барьеры растений к вредным организмам формировались в рамках биогеоценозов не столько к отдельным видам патогенов, сколько к сложившимся экологическим комплексам патогенов (вредителей и возбудителей заболеваний) (Шапиро, 1985; Вилкова, 2000). Известно, что ведущая роль в устойчивости кукурузы к болезням и вредителям принадлежит анатомическому и физиологическому барьерам, благодаря которым активно растущие меристематические ткани защищены от возбудителей пузырчатой головни, фузариоза, гиббереллеза и диплодиоза початков, стеблей, и других болезней. Однако эти барьеры не являются непреодолимыми для внутрестеблевых вредителей, таких как кукурузный мотылек. Проникая внутрь растения, гусеницы кукурузного мотылька «открывают ворота» для грибных и бактериальных инфекций. С давних пор известно, что повреждение кукурузным мотыльком усиливает поражение кукурузы стеблевыми гнилями (Christensen, Schneider, 1950; Chiang, Wilcoxson, 1961; Chez et al., 1977), пузырчатой головней (Иващенко и др., 2000), а повреждение початков способствует поражению зерна грибами и его заражению продуктами их жизнедеятельности, в том числе микотоксинами (Dowd, 1998).

Соответственно, помимо отбора на продуктивность, высокое качество зерна, способность эффективно использовать минеральное питание, устойчивость к неблагоприятным абиотическим условиям среды, полеганию приоритетным направлением работ в НПО «КОС-МАИС» является отбор на устойчивость к кукурузному мотыльку.

Заключение

Численность кукурузного мотылька – центрального элемента консорции «кукуруза – насекомые – фитопатогенные грибы» на юге России очень часто превышает пороговые значения даже для кукурузы, выращиваемой на зерно. В условиях современной тенденции к расширению возделывания кукурузы на пищевые цели приоритетность селекции этой культуры на устойчивость к вредителю существенно возрастает.

Литература

- Вилкова Н. А.* Иммунитет растений к вредным организмам и его биоценотическое значение в стабилизации агроэкосистем и повышении устойчивости растениеводства // Вестник защиты растений. 2000. Вып. 2. С. 3–5.
- Гарькавий В. В., Раева С. А.* Мировое производство и торговля зерном кукурузы // В кн.: Материалы Межд. научно-практич. конф. г. Ставрополь, 5–7 апреля 2011 г. Т. 1. М., 2011. С. 326–334.

- Иващенко В. Г. Типы устойчивости кукурузы к болезням и пути их использования в селекционной практике // В кн.: Типы устойчивости растений к болезням. Материалы научного семинара. СПб., 2003. С. 61–82.
- Иващенко В. Г., Фролов А. Н., Сотченко В. С., Гаркушка В. Г. Селекция кукурузы на устойчивость к вредным организмам на современном этапе сельскохозяйственного производства России // Вестник защиты растений. 2000. № 2. С. 20–25.
- Фролов А. Н. Изменчивость кукурузного мотылька и устойчивость к нему кукурузы: автореф. дисс. ... д. б. н. СПб., 1993. 41 с.
- Фролов А. Н. Динамика численности кукурузного мотылька и ее прогноз // Бюлл. МОИП, отд. биол. 2006. Т. 111. Вып. 1. С. 10–14.
- Фролов А. Н. Кукурузный мотылек // В кн.: Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам. Методическое пособие. М., 2008. С. 282–305.
- Фролов А. Н., Малыш Ю. М. Плотность размещения и смертность яиц и гусениц младших возрастов кукурузного мотылька на растениях кукурузы // Вестник защиты растений. 2004. № 1. С. 42–55.
- Шануро И. Д. Иммуитет полевых культур к насекомым и клещам. Л., 1985. 321 с.
- Abel C. A., Berhow M. A. et al. Evaluation of conventional resistance to European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) and western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) in experimental maize lines developed from a backcross breeding program // J. Econ. Entomol. 2000. V. 93. № 6. P. 1814–1821.
- Bohn M., Magg T. et al. Breeding early maturing European dent maize (*Zea mays* L.) for improved agronomic performance and resistance against the European corn borer (*Ostrinia nubilalis* Hb.) // Maydica. 2003. V. 48. P. 239–247.
- Chez D., Hudon M., Chiang M. S. Résistance du maïs à pyrale (*Ostrinia nubilalis* Hübner) et à la verse parasitaire causée par *Gibberella zeae* (Schw.) Petch. // Phytoprotection. 1977. V. 58. № 1. P. 5–17.
- Chiang H. C., Wilcoxson R. D. Interactions of the European corn borer and stalk rot in corn // J. Econ. Entomol. 1961. V. 54. № 5. P. 850–852.
- Christensen J. J., Schneider O. L. European corn borer (*Pyrausta nubilalis* Hbn.) in relation to shank, stalk, and ear rots of corn // Phytopathology. 1950. V. 40. № 3. P. 284–291.
- Dowd P. F. Involvement of arthropods in the establishment of mycotoxigenic fungi under field conditions. In: Mycotoxins in agriculture and food safety // In: Mycotoxins in Agriculture and Food Safety. Sinha K. K., Bhatnagar D. (eds.). Marcel Dekker: New York, 1998. P. 307–350.
- Guthrie W. D., Dicke F. F., Neiswander C. R. Leaf and sheath feeding resistance to the European corn borer in eight inbred lines of dent corn // Ohio Agric. Exp. Sta. Res. Bull. 1960. № 860. 38 p.
- Guthrie W. D., Lillehoj E. B. et al. Aflatoxin contamination of preharvest corn: interaction of European corn borer larvae and *Aspergillus flavus*-group isolates // J. Econ. Entomol. 1982. V. 75. № 2. P. 265–269.
- Troyer A. F. Development of hybrid corn and the seed corn industry. // In: Maize Handbook. V. II: Genetics and genomics. USA, 2009. P. 87–114.
- Williams W. P., Davis F. M. Reaction of a resistant and a susceptible corn hybrid to various southwestern corn borer infestation levels // Agron. J. 1984. V. 76. № 5. P. 855–856.

УДК 634.1:581.1.036

МОЛЕКУЛЯРНОЕ МАРКИРОВАНИЕ ЛОКУСА *VRN-H2* У ЯЧМЕНЯ С ПОМОЩЬЮ МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ПЦР*

М. В. Лебедева, С. Б. Теплякова

Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства
им. Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: marilistik@mail.ru

Резюме

Локус *Vrn-H2* имеет ключевое значение для определения срока начала колошения у пшеницы и ячменя. В локусе *Vrn-H2* (хромосома 4Н) у озимых форм ячменя идентифицирован кластер, состоящий из трех генов *ZCCT-H*, от наличия которого зависит потребность растения в яровизации. «Озимый» вариант структуры локуса рассматривается как доминантный аллель, «яровой» аллель *Vrn-H2* характеризуется делецией всех трех *ZCCT-H*-генов, является рецессивным и связан с ускоренным колошением. В данной работе описан и апробирован протокол геноспецифичной мультиплексной ПЦР, позволяющий достоверно идентифицировать доминантные и рецессивные аллели у сортов ячменя.

Ключевые слова: ячмень, *Vrn-H2*, яровизация, молекулярные маркеры, мультиплексная ПЦР.

MOLECULAR MARKING OF THE *VRN-H2* LOCUS IN BARLEY USING MULTIPLEX PCR

M. V. Lebedeva & S. B. Teplyakova

N. I. Vavilov All-Russian Research Institute of Plant Industry,
St. Petersburg, Russia, e-mail: marilistik@mail.ru

Summary

The *Vrn-H2* locus plays the key role in determining the heading date for barley and wheat. In the *Vrn-H2* locus of winter barley varieties a cluster of three *ZCCT-H* genes has been identified. The «winter» allele of the locus is considered as dominant, while the «spring» allele of the *Vrn-H2* locus is recessive and manifests physical deletion of all *ZCCT-H* genes. In this study, barley varieties with different growth habits were analyzed using gene-specific multiplex PCR. The PCR enables to identify reliably dominant and recessive alleles of *Vrn-H2*.

Keywords: barley, *Vrn-H2*, vernalization, molecular markers, multiplex PCR.

Введение

Озимые сорта ячменя устойчивы к низким температурам, нуждаются в яровизации и реагируют на длинный световой день. Яровые сорта более восприимчивы к низким температурам, не требуют яровизации и обычно нечувствительны к короткому световому дню (Karsai et al., 2001).

* Исследование выполнено при финансовой поддержке Межгосударственной целевой программы ЕвразЭС «Инновационные биотехнологии» (грант №14.M04.12.0008).

Иногда выделяют третью группу сортов – факультативные ячмени, которую рассматривают как подкласс озимых. Для нее нет четкого определения, но обычно имеется в виду, что сорта этой группы устойчивы к низким температурам, как озимые, но не требуют яровизации, так же как яровые (Zitzewitz et al., 2005).

Для объяснения подразделения генотипов ячменя на озимые и яровые была предложена модель эпистатического взаимодействия локусов *Vrn-H1* и *Vrn-H2* (Takahashi, Yasuda, 1971). Впервые детально она была разработана для *Triticum monococcum* L. (Yan et al., 2004) и в дальнейшем проверена на разных сортах ячменя (Zitzewitz et al., 2005).

В доминантном локусе *Vrn-H2* присутствуют три гена (*ZCCT-Ha*, *ZCCT-Hb* и *ZCCT-Hc*). Один из них, вероятнее всего *ZCCT-Ha* (Dubcovsky et al., 2005), кодирует доминантный репрессор цветения *ZCCT1*, который ингибирует экспрессию гена *VRN-H1*.

Продуктом гена *VRN1* является транскрипционный фактор MADS-box, необходимый для инициации цветения (Trevaskis et al., 2003). Сочетание доминантного аллеля в локусе *Vrn-H2* и рецессивного аллеля в локусе *VRN-H1* приводит к озимому типу развития. У сортов с доминантным аллелем локуса *Vrn-H2* репрессор цветения *ZCCT1* вызывает более позднее колошение. В случае яровых сортов из-за делеции всех трех генов *ZCCT* в локусе *Vrn-H2* (рецессивный аллель) *VRN-H1* эффективно экспрессируется, что позволяет растению быстро перейти к колошению. Для факультативных сортов также показано наличие делеции в локусе *Vrn-H2* (Zitzewitz et al., 2005).

Возможность идентифицировать аллельные варианты локуса *Vrn-H2* является важной с точки зрения практической селекции, так как позволяет прогнозировать длину вегетационного периода ячменя и быстро определять в лабораторных условиях аллели этого локуса у гибридов между озимыми и яровыми сортами.

Ранее сорта ячменя, допущенные к использованию на территории России, были проанализированы с применением доминантных аллель-специфичных маркеров к локусу *Vrn-H2* (Злотина и др., 2013). В этой работе для диагностики использовались две пары праймеров, первая из которых – HvZCCT.06F и HvZCCT.07R – позволяла амплифицировать фрагменты сразу двух генов: *ZCCT-Ha* и *ZCCT-Hb*. Дополнительная пара праймеров HvZCCT.HcF и HvZCCT.HcR предоставляла возможность идентифицировать также третий ген *ZCCT-Hc*.

Указанный способ диагностики аллелей *Vrn-H2* является не вполне удобным, так как позволяет лишь выявить наличие кластера генов *ZCCT*, тогда как отсутствие ПЦР-продукта может означать как рецессивный аллель, так и неудачную ПЦР.

Для более надежной диагностики мы разработали протокол мультиплексной ПЦР с двумя опубликованными парами праймеров (Zitzewitz et al., 2005). Первая пара праймеров

HvZCCT.001: 5'-CACATGATGTCGCCCCGTTC-3';

HvZCCT.002: 5'-GGACTCGTAGCGGATTTGC-3'

позволяет амплифицировать фрагмент гена *ZCCT-Ha* (GenBank:DQ492699.1, 2014). В случае доминантного аллеля синтезируется продукт размером 1513 пн, тогда как при наличии рецессивного аллеля целевой ПЦР-продукт отсутствует, однако амплифицируется фрагмент гена *Snf2P* (GenBank: EU331957.1, 2014), который также располагается на хромосоме 4Н и присутствует как у яровых, так и озимых генотипов. Наличие ПЦР-продукта гена *Snf2P* (375 пн) подтверждает успешную ПЦР и свидетельствует о присутствии рецессивного аллеля *Vrn-H2*. Для амплификации фрагмента гена *Snf2P* используются праймеры

HvSnf2.01F: 5'-CCTGAAGCGAGTATCCATATGC-3';

HvSnf2.03R: 5'-GCTGATTGTTTTTGTGGCCAGG-3'.

Материалы и методы

Разработанный протокол мультиплексной ПЦР для выявления аллелей *Vrn-H2* был апробирован на 18 генотипах ячменя из коллекции Всероссийского научно-исследовательского института растениеводства им. Н. И. Вавилова (ВИР).

Таблица 1. Состав реакционной смеси для мультиплексной ПЦР

Реагенты	Концентрация реагентов в смеси	Объем компонента, мкл
ДНК (~100нг/мкл)	~ 10 нг/мкл	2
H ₂ O стерильная	-	14
10xбуфер для Taq полимеразы, pH 8,6; 25mM Mg ²⁺	1x	2
dNTPs (10mM)	250 мкмоль	0,5
HvZCCT.001 (10пмоль/мкл)	0,125 мкмоль	0,25
HvZCCT.002 (10пмоль/мкл)	0,125 мкмоль	0,25
HvSnf2.01F (10пмоль/мкл)	0,125 мкмоль	0,25
HvSnf2.03R (10пмоль/мкл)	0,125 мкмоль	0,25
Taq полимеразы (5 ед/мкл)	0,1 ед/мкл	0,5
Общий объем		20

Семена ячменя (четыре семени каждого сорта) обеззараживали две минуты в 5% растворе KMnO_4 , затем тщательно промывали дистиллированной водой и проращивали на влажной фильтровальной бумаге в чашках Петри в течение 4–5 дней при температуре 25°C.

Геномную ДНК выделяли из проростков и корешков по стандартной методике с использованием СТАВ-буфера (Saghai-Marooft et al., 1984). Качество и количество выделенной ДНК проверяли с помощью спектрофотометра Shimadzu UV mini-1240.

Аллель-специфичная ПЦР проводилась в соответствии с разработанным протоколом. Состав реакционной смеси указан в таблице 1.

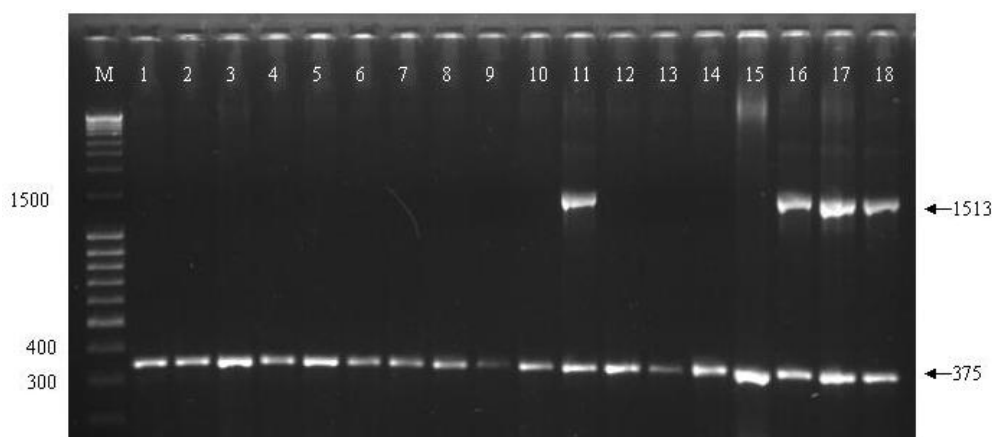
ПЦР проводилась в амплификаторе GeneAmp PCR system 9700. Условия проведения реакции указаны в таблице 2. Визуализацию продуктов ПЦР проводили с помощью электрофореза в 1,3% агарозном геле с добавлением 1% раствора бромистого этидия в 0,5×TBE буфере. (90V на 14,5 см).

Таблица 2. Условия реакции

Начальная денатурация t° (мин)	Кол-во циклов	Денатурация t° (сек)	Отжиг t° (сек)	Элонгация t° (мин)	Финальная элонгация t° (мин)
94° (3)	30	94° (25)	65° (40)	72° (1мин 45сек)	72° (5)

Результаты

С помощью разработанной мультиплексной аллель-специфичной ПЦР были проанализированы 18 генотипов ячменя с разной чувствительностью к яровизации (рис. 1).



Выявление доминантного (1513 пн) и рецессивного (375 пн) аллелей *Vrn-H2* у сортов ячменя с помощью мультиплексной ПЦР

Сорта: 1 – Morex, 2 – Barke, 3 – Harrington, 4 – TR306, 5 – Нур, 6 – Ача, 7 – Steptoe, 8 – Сокол, 9 – Жозефин, 10 – Triumph, 11 – Galleon, 12 – Skarlett, 13 – Chebec, 14 – Haruna Nijo, 15 – Clipper, 16 – Sahara, 17–18 – дигаплоидные линии от скрещивания Clipper и Sahara

Из всех исследованных генотипов только сорта ‘Galleon’ и ‘Sahara’ имеют доминантные аллели в локусе *Vrn-H2*. Две дигиплоидные линии, полученные от скрещивания сортов ‘Clipper’ (*vrn-H2*) и ‘Sahara’ (*VRN-H2*), также унаследовали доминантный аллель *VRN-H2* от родительского сорта ‘Sahara’. Остальные сорта имеют делецию в данном локусе (*vrn-H2*).

Описанный метод выявления полиморфизма в локусе *Vrn-H2* с помощью мультиплексной ПЦР может быть использован как быстрый и надежный способ диагностики аллелей *Vrn-H2* у сортов ячменя для прогнозирования потребности в яровизации и сроков колошения у озимых и яровых форм.

Литература

- Злотина М. М., Ковалева О. Н., Лоскутов И. Г., Потоккина Е. К. Использование аллель-специфичных маркеров генов *Ppd* и *Vrn* для прогнозирования продолжительности вегетационного периода сортов ячменя // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013. Т. 17. № 1. С. 50–62.
- Dubcovsky J., Chen C., Yan L. Molecular characterization of the allelic variation at the VRN-H2 vernalization locus in barley // Mol. Breed. 2005. V. 15. P. 395–407.
- GenBank: DQ492699.1, URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/DQ492699.1> [сайт] (дата обращения 19.12.2014)
- GenBank: EU331957.1, URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/EU331957.1> [сайт] (дата обращения 19.12.2014)
- Karsai I., Hayes P. et al. Genetic variation in component traits of heading date in *Hordeum vulgare* subsp. *Spontaneum* accessions characterized in controlled environments // Crop Science. 2004. V. 44. P. 1622–1632.
- Saghai-Marooif M., Soliman K. et al. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1984. V. 81. P. 8014–8018.
- Takahashi R., Yasuda S. Genetics of earliness and growth habit in barley // Barley Genetics II. Proc 2nd International Barley Genetics Symposium, Washington State University Press, 1971. P. 388–408.
- Trevaskis B., Bagnall D. et al. MADS box genes control vernalization-induced flowering in cereals // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003. V. 100. P. 13099–13104.
- Yan L., Loukoianov A. et al. Positional cloning of wheat vernalization gene VRN1 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003. V. 100. P. 6263–6268.
- Zitzewitz J., Szucs P. et al. Molecular and structural characterization of barley vernalization genes // Plant Molecular Biology. 2005. V. 59. P. 449–467.

УДК 575.116.4:312.32:633.16

КОМПЛЕКС ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ БЕЛКИ СЕМЯН ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ СОРТОВ ЯЧМЕНЯ *

А. А. Поморцев, С. В. Болдырев, Е. В. Лялина
Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН,
Москва, Россия, e-mail: pomortsev@vigg.ru

Резюме

Рассмотрены проблемы лабораторного сортового контроля семян ячменя при использовании электрофореза только спирторастворимых белков зерна – гордеинов. Показано, что этим методом можно идентифицировать около 80% современных сортов, возделываемых в России. Из 12 регионов страны только в двух регионах по электрофореграммам гордеинов различаются все сорта. Для более полной и надежной идентификации сортов, идентичных по гордеинам, следует использовать электрофорез легкорастворимых белков. Показано, что условия выращивания не влияют на электрофоретический спектр легкорастворимых белков.

Ключевые слова: ячмень, запасные белки зерна, лабораторный сортовой контроль.

THE COMPLEX OF POLYMORPHIC LOCI ENCODING SEED PROTEINS FOR IDENTIFICATION OF BARLEY VARIETIES

A. A. Pomortsev, S. V. Boldyrev & L. V. Lyalina
N. I. Vavilov Institute of General Genetics, Moscow,
Russia, e-mail: Pomortsev@vigg.ru

Summary

The problems of laboratory-based seed control of barley varieties using electrophoresis of alcohol-soluble seed proteins (hordeins) are discussed. This method is shown to be capable of identifying approximately 80% of modern commercial varieties cultivated in Russia. Hordein spectra can discriminate all cultivars in only two of 12 regions of the country. Therefore, electrophoresis of water-soluble seed proteins is suggested for complete and precise identification of varieties with identical hordein spectra. Electrophoretic spectra of water-soluble proteins are not affected by plant cultivation environments.

Keywords: barley, seed storage proteins, laboratory-based seed control of barley varieties.

Для идентификации сортов ячменя, а также определения сортовой чистоты семенных и товарных партий пивоваренного ячменя в настоящее время наиболее широко используют различные методики электрофореза

*Работа выполнена при поддержке Программы Президиума РАН «Живая природа», подпрограмма «Динамика и сохранение генофондов»

спирторастворимых белков зерна – гордеинов (Конарев и др., 1979; Cook, 1992; Поморцев, Лялина, 2011). С использованием электрофореза гордеинов в крахмальном геле показано, что они контролируются семью локусами (*Hrd A – Hrd G*), три из которых – *Hrd A*, *Hrd B* и *Hrd F* – обладают уникальным полиморфизмом (Созинов и др., 1978; Поморцев и др., 1983). Так, в результате электрофоретического анализа гордеинов в более чем 1600 образцах мировой коллекции и современных сортах ячменя нами для локуса *Hrd A* обнаружено 155 аллелей, для локуса *Hrd B* – 270 аллелей и для локуса *Hrd F* – 5 аллелей (Поморцев, Лялина, 2011). Теоретически это позволяет идентифицировать более 209 000 генотипов (сортов) ячменя. Вместе с тем нами показано, что реально методом электрофореза гордеинов можно идентифицировать только около 80% сортов ярового ячменя, включенных в Государственный реестр селекционных достижений РФ. В настоящее время в реестр включены несколько групп сортов ячменя, идентичных по гордеинам и допущенных к использованию в одних и тех же регионах. Например, сорта ‘Ача’, ‘Симон’, ‘Оскар’ в регионах 10 и 11, ‘Атаман’, ‘Беатрис’, ‘Пасадена’ в регионах 3 и 5 (рис. 1, таблица).

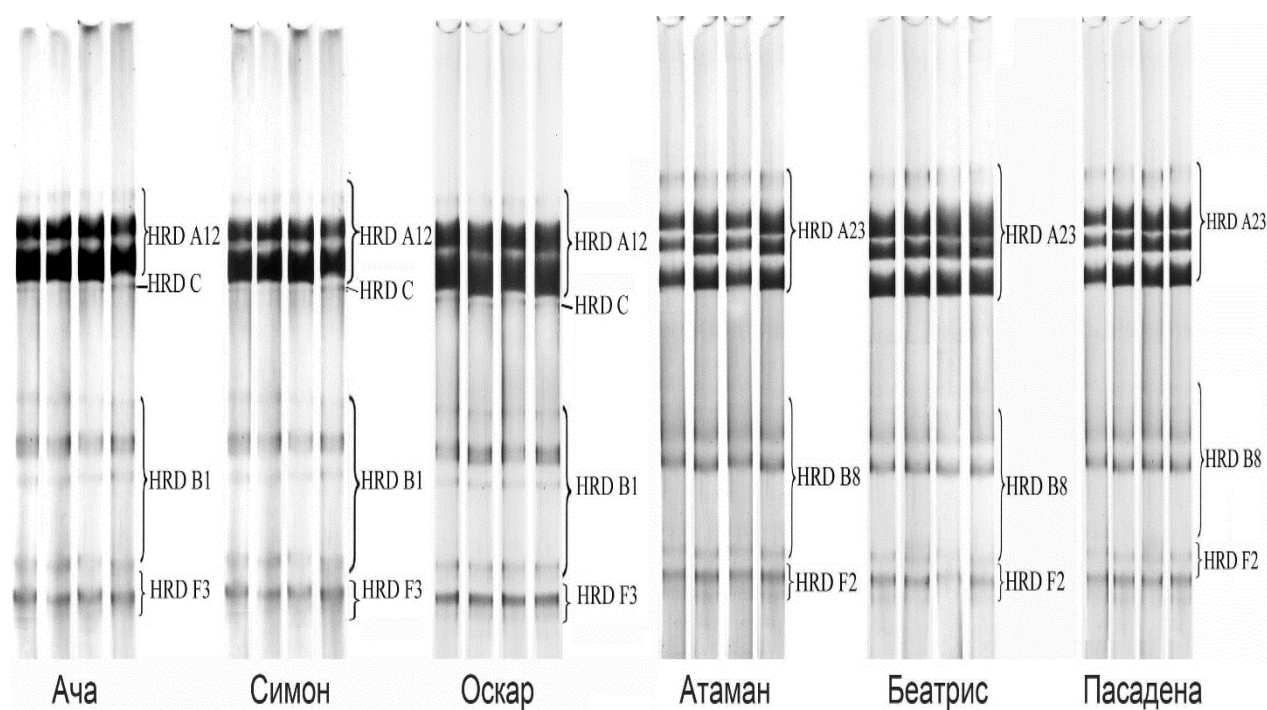


Рис. 1. Электрофореграммы гордеинов сортов ячменя при электрофорезе в крахмальном геле, рН 3,1

HRD обозначают гордеины, буквы А, В, F – блоки компонентов гордеинов, контролируемые локусами *Hrd A*, *Hrd B*, *Hrd F* соответственно. Цифры обозначают порядковые номера вариантов блоков компонентов, контролируемых аллелями соответствующего локуса

Как видно из таблицы, по гордеинам можно дифференцировать все сорта ячменя только в двух регионах из двенадцати. В остальных регионах к использованию допущено от двух до пяти групп сортов, идентичных по гордеинам.

Дифференциация методом электрофореза гордеинов в крахмальном геле сортов ярового ячменя, допущенных к использованию в различных регионах Российской Федерации

Регион	Число сортов, шт.	Всего различных сортов, шт.	Группы, включающие более одного сорта
Северный (1)	5	5	нет
Северо-Западный (2)	22	18	1 группа – 4 сорта 1 группа – 2 сорта
Центральный (3)	34	23	1 группа – 6 сортов 2 группы – по 3 сорта 2 группы – по 2 сорта
Волго-Вятский (4)	27	17	1 группа – 8 сортов 1 группа – 3 сорта 1 группа – 2 сорта
Центрально-Черноземный (5)	40	33	1 группа – 4 сорта 1 группа – 3 сорта 2 группы – по 2 сорта
Северо-Кавказский (6)	24	14	1 группа – 4 сорта 1 группа – 3 сорта 3 группы – по 2 сорта
Средневолжский (7)	24	16	1 группа – 4 сорта 4 группы – по 2 сорта
Нижневолжский (8)	18	10	1 группа – 5 сортов 1 группа – 3 сорта 2 группы – по 2 сорта
Уральский (9)	22	18	1 группа – 4 сорта 1 группа – 2 сорта
Западно-Сибирский (10)	28	20	1 группа – 6 сортов 3 группы по 2 сорта
Восточно-Сибирский (11)	21	16	1 группа – 3 сорта 3 группы – по 2 сорта
Дальневосточный (12)	12	12	нет

Таким образом, с помощью электрофоретического анализа только этих белков невозможно точно идентифицировать сорта, входящие в одну группу, и, соответственно, установить их возможное взаимное засорение. Вопрос о надежной идентификации особенно остро стоит для так называемых Null-Lox сортов, характеризующихся отсутствием активности фермента липоксигеназы, способствующего быстрому старению пива. Очевидно, что даже небольшие примеси обычных сортов в партиях зерна Null-Lox сортов могут привести к утрате качественных преимуществ последних, не говоря уже о возможной путанице или подмене партий. Один из таких сортов, включенных в реестр, – сорт ‘Чилл’, идентичен по гордеинам сортам ‘Аннабель’, ‘Зевс’, ‘Княжич’. Следовательно, для идентификации таких сортов необходимо использование дополнительных генетических маркеров, которые позволяли бы четко различать идентичные по гордеинам сорта. При этом анализ дополнительных

маркеров должен быть быстрым, дешевым и пригодным для массовых оценок партий зерна. Нами предлагается в качестве дополнительных генетических маркеров использовать локусы, контролирующие легкорастворимые белки зерна ячменя, выявляемые методом электрофореза в ПААГ в трис-глициновом буфере, pH 8,3 (Davis, 1964).

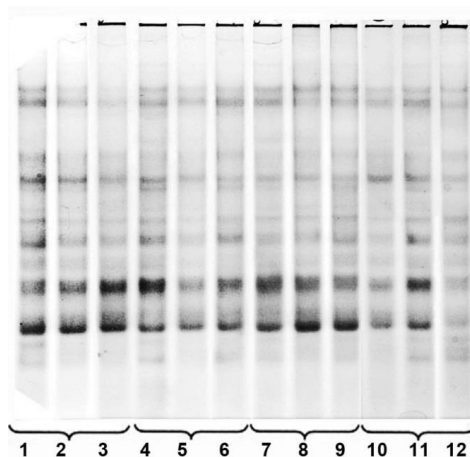


Рис. 2. Электрофореграммы легкорастворимых белков зерна ячменя сорта Жозефин, выращенного в разные годы в различных регионах России

1–3 – Москва, 2010 г.; 4–6 – Тульская обл., 2009 г.; 7–9 – Амурская обл., 2010 г.; 10–12 – Воронежская обл., 2010 г.

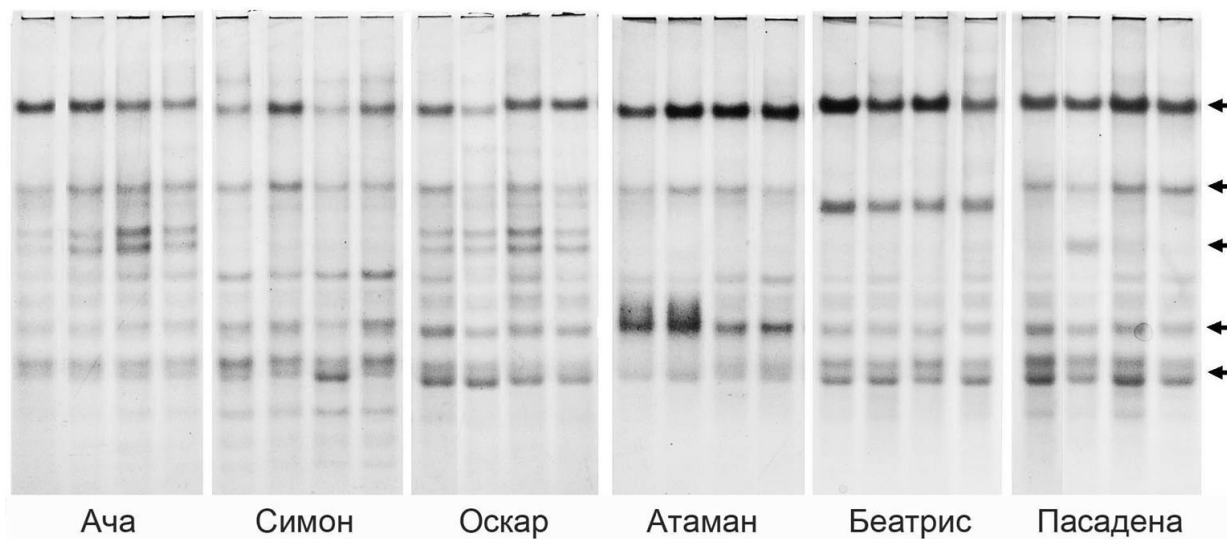


Рис. 3. Электрофореграммы легкорастворимых белков зерна ячменя в ПААГ, pH 8,3 у двух групп сортов, идентичных по гордеинам

Ача, Симон, Оскар – формула гордеина HRD A12 B1 F23; Атаман, Беатрис, Пасадена – формула гордеина HRD A23 B8 F2. Стрелками указаны зоны белковых компонентов на электрофореграммах, по которым сорта различаются.

Как показали наши исследования, электрофореграммы этих белков не зависят от условий выращивания семян. Об этом свидетельствуют результаты

электрофоретического анализа легкорастворимых белков зерна сорта 'Жозефин', выращенных в разные годы в различных регионах страны (рис. 2). Электрофорез легкорастворимых белков зерна у сортов, идентичных по гордеинам, входящих в пять групп, позволил полностью дифференцировать сорта в пределах каждой группы. На рисунке 3 в качестве примера приведены электрофореграммы легкорастворимых белков двух групп сортов, идентичных по гордеинам. Как видно из рисунка, сорта, идентичные по гордеинам, четко различаются по электрофореграммам легкорастворимых белков. Заметим, что с помощью анализа легкорастворимых белков удастся отличить сорт 'Чилл' от других сортов ячменя с такой же формулой гордеина. Это свидетельствует о возможности эффективного использования легкорастворимых белков в качестве дополнительных маркеров при идентификации сортов ячменя. Предварительный генетический анализ показал, что электрофоретические компоненты легкорастворимых белков наследуются группами и контролируются минимум четырьмя локусами, обозначенными нами *Slp A–Slp D*. К настоящему времени по каждому из локусов идентифицировано от 2 до 3 аллелей. Таким образом, комплексное использование электрофоретического анализа белков зерна, контролируемых локусами *Hrd* и *Slp*, позволяет резко повысить надежность идентификации сортов.

Литература

- Конарев В. Г., Дягилева Г. Е., Гаврилюк И. П., Трофимовская А. Я. Сортная идентификация ячменя по электрофоретическим спектрам гордеина // Бюлл. ВИР. 1979. Вып. 92. С. 30–40.
- Поморцев А. А., Нецветаев В. П., Попереля Ф. А., Созинов А. А. Идентификация шестого локуса, контролирующего синтез гордеина у озимого ячменя // Докл. ВАСХНИЛ. 1983. № 1. С. 7–11.
- Поморцев А. А., Лялина Е. В. Оценка сортовой принадлежности и сортовой чистоты семян ячменя методом электрофоретического анализа запасных белков зерна // Методическое пособие к практикуму «Белковые маркеры для генетической паспортизации и улучшения геномов растений хозяйственно ценных видов. М., 2011. 86 с.
- Созинов А. А., Нецветаев В. П., Григорян Э. М., Образцов И. С. Картирование локусов *Hrd* у ячменя (*Hordeum vulgare* L. emed. Vav. et Bach.) // Генетика. 1978. Т. 14. № 9. С. 1610–1619.
- Cook R. J. Handbook of variety testing. Electrophoresis handbook: variety identification. ISTA, 1992. 25 p.
- Davis B. J. Disc electrophoresis - II method and application to human serum proteins // Annals of the New York Academy of Sciences. 1964. V. 121. № 2. P. 404–427.

УДК 633.174:632.732:581.573.4

ДОНОРЫ ЭФФЕКТИВНЫХ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ СОРГО К ОБЫКНОВЕННОЙ ЗЛАКОВОЙ ТЛЕ ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ В КРАСНОДАРСКОМ КРАЕ*

Е. Е. Радченко¹, Т. Л. Кузнецова¹, Е. В. Малиновская²

¹Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства
им. Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: Eugene_Radchenko@rambler.ru

²Кубанская опытная станция ВИР, Краснодарский край, Гулькевичский район,
п. Ботаника

Резюме

Для селекции предлагаются линии сорго, обладающие высокой устойчивостью к обыкновенной злаковой тле и другими ценными признаками. Показано, что при создании высокопродуктивных и устойчивых к тле форм сорго целесообразно использовать ограниченные (1–2) беккроссы. Устойчивость исходных образцов к-1362, к-924, к-928, к-929, к-1237 не сцеплена с отрицательными свойствами.

Ключевые слова: сорго, обыкновенная злаковая тля, устойчивость растений.

DONORS OF EFFECTIVE GENES OF GREENBUG RESISTANCE IN SORGHUM FOR BREEDING IN KRASNODAR REGION

E. E. Radchenko¹, T. L. Kuznetsova¹ & E. V. Malinovskaya²

¹N. I. Vavilov All-Russian Research Institute of Plant Industry,
St. Petersburg, Russia, e-mail: Eugene_Radchenko@rambler.ru

²Kuban Experimental Station of the N. I. Vavilov All-Russian Research
Institute of Plant Industry, Russia

Summary

Sorghum lines with high level of greenbug resistance and other important traits are recommended for plant breeding. Limited (1–2) backcrosses are proved to be an efficient method for the development of high yielding and aphid resistant sorghum forms. Greenbug resistance in accessions k-1362, k-924, k-928, k-929, and k-1237 is not linked to any negative plant characters.

Keywords: sorghum, greenbug, plant resistance.

Введение

Обыкновенная злаковая тля – *Schizaphis graminum* Rondani – ключевой вредитель сорго, устойчивость к которому контролируется олигогенно. Характерное для фитофага дифференциальное взаимодействие с генотипами хозяина означает, что генетическая однородность возделываемых сортов создает условия для массового размножения насекомого.

*Работа поддержана РФФИ (гранты № 11-04-96509 и № 12-04-00710).

Широкое выращивание в 80-х годах XX века сортов и гибридов сорго, имеющих в родословной лишь один устойчивый сорт ‘Сарваши’, способствовало ускорению адаптивной микроэволюции насекомого и довольно быстро привело к накоплению вирулентных клонов тли. В настоящее время ‘Сарваши’ и его производные сильно повреждаются насекомым. Зарубежные аналоги (образцы, устойчивые к ряду биотипов *S. graminum* в США) неэффективны против популяций тли из России. Необходимость создания форм сорго с новыми генами устойчивости к опасному фитофагу вполне очевидна.

В результате многолетней работы выявили образцы сорго, защищенные не использовавшимися ранее в селекции генами устойчивости. Так, по два гена устойчивости (доминантному и рецессивному) к краснодарской популяции *S. graminum* имеют образцы зернового сорго к-1362 Дурра белая, Сирия (гены *Sgr5* + *Sgr6*) и к-924 Джугара белая, Китай (*Sgr7* + *Sgr8*). Одному из двух доминантных генов образца к-1237 (Джугара белая, Китай) присвоен символ *Sgr11* (Радченко, 2000). Образцы зернового сорго к-928 и к-929 (Джугара белая, Западный Китай) имеют по два высокоэффективных доминантных гена устойчивости, отличающихся от генов *Sgr1* – *Sgr4*, *Sgr6*, *Sgr9*, *Sgr10*. Гены устойчивости образца к-929 отличаются также от гена *Sgr5*. У образца к-928 выявлен третий доминантный ген устойчивости, экспрессирующийся против отдельных клонов тли. Этому гену присвоен символ *Sgr13* (Радченко, 2006).

Известно, что если устойчивость контролируется небольшим числом генов, в селекции целесообразно использовать метод беккроссов. Получили частичные аналоги выведенных ранее сортов на базе двух доноров устойчивости – образцов к-924 (Китай) и к-1362 (Сирия). В качестве рекуррентных родителей использовали образцы зернового сорго ‘Зерноградское 54’, ‘Урожайное 8’, ‘Кубанское красное 1677’, ‘Хегари 2259’, Л-100. Так как устойчивость носит доминантный характер, проводили непрерывные насыщающие скрещивания. Всего было создано девять новых доноров, получено свыше 400 устойчивых линий на базе образцов к-1362 и к-924 (Радченко и др., 2009). С использованием образцов к-929, к-1237 (Китай) и стерильной линии Низкорослое 81с созданы доноры устойчивости Rsg-1237-11 и Rsg-929-12 (Радченко и др., 2011; 2013). Значительное число полученных форм (свыше 1000 линий BC₁ – BC₂) предоставляет возможность дальнейшего отбора устойчивых линий, превосходящих материнские формы и созданные ранее доноры устойчивости по ряду признаков. Цель работы – изучение донорских свойств созданных нами форм сорго.

Материалы и методы

Отбор по основным хозяйственно-ценным признакам осуществляли в 2011–2014 гг. на коллекционных посевах сорго Кубанской опытной станции ВИР (КОС ВИР, Краснодарский край, Гулькевичский район). Ежегодно высевали по 150–200 устойчивых линий на однорядковых делянках ($S = 5 \text{ м}^2$) с площадью питания 70×20 см. Фенологические наблюдения и промеры

морфометрических признаков линий, родительских форм и стандартного сорта 'Кубанское красное 1677' (по 10 типичных растений) осуществляли в соответствии с методиками ВИР (Шмараев и др., 1968; Якушевский и др., 1982).

В 2011–2012 гг. оценили эффективность устойчивости пяти образцов сорго из Китая и Сирии. На посевах КОС ВИР тлю собирали три раза за сезон вегетации хозяина. В лаборатории собранные субпопуляции клонировали, размножали и заселяли проростки опытных образцов. При гибели контроля (линия Низкорослое 81) оценивали поврежденность устойчивых форм по шкале от 0 (нет повреждений) до 10 (гибель растений). Вирулентные клоны обуславливали поврежденность растений 9–10 баллов, поврежденность авирулентными клонами не превышала трех баллов.

В лабораторных условиях оценивали поврежденность линий краснодарской популяцией *S. graminum*. Предварительно пророщенные семена высевали рядами в пластмассовые кюветы, наполненные нестерильной смесью почвы, песка и торфа. В каждую кювету помещали по одному рядку (10–20 растений) неустойчивого контроля (Низкорослое 81) и 8–9 рядков испытываемых образцов. Проростки заселяли насекомыми. В период гибели неустойчивого контроля оценивали поврежденность растений по шкале от 0 до 10.

Для изучения характера наследования признака устойчивости получили гибриды F_1 от скрещивания устойчивых линий с восприимчивыми тестерами (стерильными линиями Низкорослое 81с, А-10598 и А-83). В кюветы с почвой рядками высевали родительские формы (Р) и F_1 . Проростки заселяли тлей, а при гибели неустойчивого родителя оценивали устойчивость в баллах. При анализе расщепления F_2 гибридов от скрещивания устойчивых линий с восприимчивыми тестерами в кювету с почвой помещали по одному рядку P_1 , P_2 , F_1 и 8 рядков F_2 . Семена F_2 представляли собой потомство одного растения F_1 . В фазу второго листа растения заселяли тлей. При гибели материнской формы оценивали поврежденность F_2 гибридов.

Результаты и обсуждение

Лабораторные эксперименты продемонстрировали высокую эффективность устойчивости зернового сорго из Китая (к-924, к-928, к-929, к-1237) к обыкновенной злаковой тле. В 2011 г. 253 клон тли, выделенных из краснодарской популяции, были авирулентны к образцу к-924; в 2012 г. все четыре образца характеризовались устойчивостью к 83 клонам, имевшимся в нашем распоряжении. Вирулентность к образцу Дурра белая (Сирия) в 2011 г. выявили у восьми из 253 клонов насекомого. На следующий год эффективность устойчивости этой формы была заметно ниже: сильно повреждали к-1362 уже 12 клонов тли.

В 2011 г. анализировали морфометрические признаки шести родительских форм и 33 устойчивых линий. В таблице 1 представлена

характеристика девяти линий, полученных с участием образца к-924. Устойчивые аналоги в большинстве случаев не отличаются от улучшаемых сортов или даже превосходят их по ряду параметров. Так, по высоте растений с рекуррентными родителями сходны четыре линии, существенно ниже – пять; большая ассимиляционная поверхность листьев характерна для аналогов сорта ‘Хегари 2259’; ряд частичных аналогов сортов ‘Кубанское красное 1677’ и ‘Зерноградское 54’ обладает крупной метелкой. Наиболее варьирующие признаки – выдвинутость оси соцветия (коэффициент вариации $V = 26,0\% - 107,6\%$) и длина главного побега ($V = 2,9\% - 34,2\%$). Варьирование по другим признакам невысоко.

Таблица 1. Селекционно-ценные признаки устойчивых к *Schizaphis graminum* линий сорго (Кубанская опытная станция ВИР, 2011 г.)

Родительские формы, линии	Длина главного побега, см	Длина листа, см	Ширина листа, см	Выдвинутость оси соцветия, см	Длина метелки, см	Ширина метелки, см
к-924	321,7 г*	61,0 ж	7,9 г	-0,8 а	12,5 а	6,8 где
Кубанское красное 1677	132,0 в	46,8 в	4,5 а	17,4 еж	23,9 бв	5,7 абв
Хегари 2259	93,9 аб	58,2е	5,9 б	11,6 вг	22,5 б	6,9 где
Зерноградское 54	125,4 в	46,7 в	4,7 а	16,5 деж	24,6 в	5,9 абв
F ₁₄ BC ₁ (Кубанское красное 1677 × к-924)	123,1 в	42,6 б	4,8 а	20,5 ж	23,7 бв	5,6 аб
F ₁₆ BC ₁ «	90,7 а	34,0 а	4,2 а	15 где	23,0 бв	5,2 а
F ₁₂ BC ₁ «	96,5 аб	51,0 г	6,1 бв	8,6 бв	28,5 г	7,1 где
F ₁₃ BC ₂ (Зерноградское 54 × к-924)	101,2 аб	50,3 г	6,1 бв	11 вг	28,1 г	7,6 е
«	106,7 б	44,5 б	5,1 аб	14,1 где	28,0 г	6,3 бвг
«	94,1 аб	43,7 б	4,5 а	5,8 б	29,1 г	6,5 вгд
F ₁₅ BC ₁ (Хегари 2259 × к-924)	105,4 б	60,2 ж	8,3 г	12,4 вгд	22,2 б	7,5 е
«	102,0 б	55,5 д	7,1 вг	11,9 вг	22,8 бв	7,3 де
«	110,3 б	62,1 ж	8,0 г	13,3 где	23,0 бв	7,4 де

*Здесь и далее различия между вариантами, обозначенными разными буквами по вертикали, существенны по многогранговому критерию Дункана ($P < 0,05$)

Получили гибриды F₁ от скрещивания устойчивых линий с восприимчивыми тестерами – всего 33 гибридные комбинации. Лабораторные эксперименты показали, что у 32 гибридов F₁ устойчивость доминирует, восприимчивым оказался лишь один гибрид А-10598 × F₁₅BC₁ (‘Хегари 2259’ × к-924), то есть аналог несет рецессивный ген устойчивости *Sgr8* образца к-924.

В связи с наметившейся тенденцией снижения эффективности генов устойчивости образца к-1362, в 2012–2013 гг. основное внимание было уделено отбору линий, имеющих ген (гены) устойчивости образца к-924. Так, в 2013 г. отобрали продуктивную линию Rsg-2259/924-13. Линия создана методом беккроссов, гибридная формула BC₁F₁₆ (‘Хегари 2259’ × к-924).

Характеризуется высокой устойчивостью к насекомому (балл повреждения – 1, до 10% листовой поверхности), которая контролируется доминантным (*Sgr7*) и рецессивным (*Sgr8*) генами образца к-924. Линия сходна либо превосходит по основным признакам рекуррентный сорт 'Хегари 2259'. Высота растений 102,0 см, длина метелки 26,8 см, ширина – 4,2 см, длина листа 66,6 см, ширина – 8,4 см, на стебле 9–10 листьев, ветвление стебля слабое, общая и продуктивная кустистость 3,2 шт., выдвинутость метелки 11,2 см.

Обширный материал получен в результате гибридизации образцов из Китая к-928, к-929, к-1237 со стерильной линией Низкорослое 81с. Созданы доноры устойчивости к *S. graminum* Rsg-1237-11 (гибридная формула BC₁F₈ Низкорослое 81с × к-1237) и Rsg-929-12 (BC₁F₈ Низкорослое 81с × к-929). Доноры имеют по одному доминантному гену устойчивости к краснодарской популяции тли и обладают рядом других селекционно-ценных признаков (Радченко и др., 2011; 2013).

Таблица 2. Характеристика образцов сорго по селекционно-ценным признакам (Кубанская опытная станция ВИР, 2014 г.)

Образец	Низкорослое 81	к-928	к-929	к-1237	Rsg-928-14	Rsg-929-12	Rsg-1237-11	Кубанское красное 1677
Длина главного побега, см	116,6 гд*	282,8 в	318,5 а	304,0 б	111,7 гд	110,8 д	104,1 е	117,2 г
Кустистость общая, шт.	1,3 б	1,3 б	1,3 б	1,0 б	1,9 а	1,9 а	1,4 б	2,2 а
Кустистость продуктивная, шт.	1,2 в	1,0 в	1,1 в	1,0 в	1,9 а	1,8 аб	1,4 бв	2,2 а
Число листьев, шт.	10,8 б	10,7 б	13,0 а	13,0 а	12,6 а	10,8 б	12,8 а	10,9 б
Длина листа, см	76,1 а	61,8 г	60,9 г	60,2 г	72,7 аб	70,2 бв	68,3 в	67,6 в
Ширина листа, см	9,6 б	7,6 де	8,1 гд	7,1 е	9,2 бв	11,5 а	11,2 а	8,7 вг
Выдвинутость оси соцветия, см	6,2 б	–4,8 д	–5,1 д	–1,0 г	15,8 а	6,3 б	4,4 бв	2,5 в
Длина метелки, см	27,7 а	17,0 в	11,9 д	13,9 г	24,9 б	28,9 а	21,2 в	28,2 а
Ширина метелки, см	9,2 а	8,1 бв	7,4 вг	6,6 г	7,1 г	9,0 аб	7,4 вг	7,1 г
Период всходы-созревание, дни	88	98	98	96	90	92	92	88

*Здесь и далее различия между вариантами, обозначенными разными буквами по вертикали, существенны по многогранговому критерию Дункана ($P < 0,05$).

В 2014 г. отобрали ряд сходных по фенотипу с рекуррентным родителем устойчивых линий ВС₁, полученных от скрещивания образца к-928 с линией Низкорослое 81с, одну из которых обозначили как Rsg-928-14. Анализировали расщепление по устойчивости к краснодарской популяции *S. graminum* F₂ гибрида Низкорослое 81с × Rsg-928-14. Наблюдавшееся соотношение фенотипов (115 устойчивых : 36 восприимчивых) соответствовало моногенному доминантному контролю признака ($\chi^2 = 0,11$; P = 0,50–0,75), то есть донор имеет один из трех генов устойчивости образца к-928.

В полевых условиях КОС ВИР сравнили морфометрические признаки трех новых доноров устойчивости, родительских форм и стандартного сорта ‘Кубанское красное 1677’ (табл. 2). Донор Rsg-928-14 не отличался по высоте растений, длине и ширине листа от линии Низкорослое 81с, характеризовался более высокой продуктивной кустистостью, однако имел несколько меньшие метелки. Донор сходен практически по всем признакам и со стандартным сортом. Необходимо отметить, что Rsg-928-14 значительно превосходил ‘Кубанское красное 1677’ и Низкорослое 81с по выдвинутости оси соцветия (признак, очень важный для механизированной уборки). Созданные ранее Rsg-1237-11 и Rsg-929-12, также сходны по селекционно-ценным признакам с рекуррентной линией и стандартным сортом. Все новые доноры устойчивости сорго к *S. graminum* относятся к раннеспелым (Якушевский и др., 1982).

Выводы

Показано, что образцы сорго с новыми генами устойчивости к обыкновенной злаковой тле отвечают всем требованиям, предъявляемым к донорам (Мережко, 1984): они легко скрещиваются с улучшаемыми сортами и дают при этом высокофертильное потомство, достаточно универсальны и не имеют отрицательных признаков, генетически сцепленных с устойчивостью к вредителю. При создании высокопродуктивных и устойчивых к *Schizaphis graminum* форм сорго целесообразно использовать ограниченные беккроссы. Для селекции предлагаются доноры, сочетающие высокую устойчивость к обыкновенной злаковой тле с другими ценными признаками.

Литература

- Мережко А. Ф. Система генетического изучения исходного материала для селекции растений (Методические указания). Л., 1984. 70 с.
- Радченко Е. Е. Идентификация генов устойчивости сорго к обыкновенной злаковой тле // Генетика. 2000. Т. 36. № 4. С. 510–519.
- Радченко Е. Е. Наследование устойчивости образцов зернового сорго и суданской травы к обыкновенной злаковой тле // Генетика. 2006. Т. 42. № 1. С. 65–70.
- Радченко Е. Е., Зубов А. А., Малиновская Е. В. Доноры эффективных генов устойчивости зернового сорго к обыкновенной злаковой тле // Тр. по прикл. бот., ген. и сел. 2009. Т. 166. С. 208–214.

- Радченко Е. Е., Малиновская Е. В., Кузнецова Т. Л. Донор устойчивости зернового сорго к обыкновенной злаковой тле Rsg-1237-11 // Тр. по прикл. бот., ген. и сел. 2011. Т. 168. С. 159–162.
- Радченко Е. Е., Малиновская Е. В., Кузнецова Т. Л. Новый донор устойчивости сорго к обыкновенной злаковой тле Rsg-929-12 // Кукуруза и сорго. 2013. № 1. С. 14–16.
- Шмараев Г. Е., Ярчук Т. А. и др. Методические указания по изучению коллекционных образцов кукурузы, сорго и крупяных культур (просо, гречиха, рис). Л., 1968. 51 с.
- Якушевский Е. С., Варадинов С. Г. и др. Широкий унифицированный классификатор СЭВ и международный классификатор СЭВ возделываемых видов рода *Sorghum* Moench. Л.: ВИР, 1982. 34 с.

УДК 581.1

БЕЛКОВЫЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРИ СИСТЕМНОЙ ИНДУЦИРОВАННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К ФИТОВИРУСАМ У РАСТЕНИЙ ТАБАКА И КАРТОФЕЛЯ*

Н. А. Рожнова, Г. А. Геращенко

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра, Уфа, Россия, e-mail:
rnata2013@gmail.com; e-mail: apomixis@anrb.ru

Резюме

В модельных системах растений семейства пасленовых обнаружена иммуностимулирующая антифитовирусная активность арахидоновой кислоты, ацетат альфа-токоферола, убихинона 50. Установлены диапазоны их оптимальных концентраций и эффекты пролонгированного действия. На основании анализа белковых спектров высказано предположение о наличии у растений табака и картофеля альтернативных путей сигнальной трансдукции, обеспечивающих формирование системной устойчивости, индуцированной вирусной инфекцией и активаторами защитных реакций.

Ключевые слова: *Nicotiana tabacum*, *Solanum tuberosum*, арахидоновая кислота, убихинон 50, витамин E, антивирусная устойчивость, индуцированные белки, системная индуцированная устойчивость.

PROTEIN AND BIOCHEMICAL MARKERS AS APPLIED TO INDUCED SYSTEMIC RESISTANCE OF TOBACCO AND POTATO TO PLANT VIRUSES

N. A. Rozhnova & G. A. Gerashchenkov

Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Centre, Ufa, Russia,
e-mail: rnata2013@gmail.com; e-mail: apomixis@anrb.ru

Summary

Immunity-inducing activities of arachidonic acid, alpha-tocopherol acetate and ubiquinone 50 were detected in model plant systems of the Solanaceae family. Ranges of their optimal concentration and effects of their prolonged activity were identified. Protein spectra analysis led to the assumption concerning the presence of alternative signal transduction ways in tobacco and potato plants.

Keywords: *Nicotiana tabacum*, *Solanum tuberosum*, arachidonic acid, ubiquinone 50, vitamin E, antivirus resistance, induced proteins, system acquired resistance.

* Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Академии наук Республики Башкортостан и РФФИ (грант 14-04-97089 p_поволжье_a).

Введение

Растения в ходе эволюции сформировали конститутивные и индуцибельные механизмы устойчивости, направленные на блокирование инфекции потенциальных патогенов, в том числе вирусных. Системная индуцированная устойчивость, в отличие от конститутивной устойчивости, не наследуется в потомстве, а формируется в соматической ткани растений *de novo* под влиянием соответствующего индуктора (Лахматова, 1992). Известно, что некоторые химические вещества при экзогенном их применении обладают такой же способностью, как и фитовирусы, вызывать системную индуцированную вирусоустойчивость. Синонимами системной индуцированной устойчивости, используемыми в настоящее время в литературе, являются такие термины, как «иммунизация», «сенсibilизация», «приобретенная устойчивость», «вакцинация», или «перекрестная защита» (последний термин понимается как защита от патогена в результате преинфицирования растительных тканей слабопатогенными штаммами). Полагают, что в основе системного ответа лежат процессы отдаленной сигнальной трансдукции, которые способны инициировать сложный набор координированных событий, приводящих к широкому спектру защитных реакций (Kang et al., 2005).

Анализ множественных путей трансдукции сигнала при реализации индуцированной устойчивости в настоящее время является интенсивно разрабатываемой областью. Предполагают, что активаторы защитных реакций действуют как аналоги или индукторы эндогенных сигналов, участвующих в общей системе трансдукции сигнальных процессов, которая ответственна за экспрессию генов неспецифической устойчивости (Grant, Lamb, 2006).

Использование индукторов устойчивости к комплексу болезней, в том числе и к вирусам, является одним из важнейших направлений в селекции и защите растений. Это особенно актуально в связи с тем, что ущерб растениеводству, наносимый вирусными болезнями, довольно велик и составляет от 10 до 90%. Кроме того, вирусы приносят большой ущерб семеноводству картофеля, приводя к вирусному вырождению сортов. Цель работы – изучение белковых и генетических механизмов защитного действия активаторов защитных реакций.

Материалы и методы

Растительный материал. Для исследований использовали 6–8 недельные здоровые растения табака (*Nicotiana tabacum* L.) сорта ‘Samsun NN’ и двухнедельные безвирусные пробирочные растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.), сорт ‘Невский’, выращенные при освещенности 9–10 клк, длине дня 16 часов, при температуре 22–23°C днем и 20°C ночью, влажности воздуха 70%. Чистоту материала на вирусную инфекцию проверяли методом

иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью диагностических моновалентных наборов.

Активаторы защитных реакций и ВТМ. В качестве активаторов защитных реакций (АЗР) растений к вирусам были применены следующие соединения: арахидоновая кислота АК («Fluka», Швейцария), убихинон У («Sigma», США) и витамин Е (фармакопейный препарат 50% витамина Е в масле отечественного производства). Препараты АК, У и Е применяли в концентрации 10^{-8} М, приводящей к минимальному накоплению фитовирусов.

Для инфицирования листьев табака использовали обыкновенный штамм вируса табачной мозаики (ВТМ). ВТМ относится к группе тобамовирусов, способных индуцировать образование некрозов у сортов табака с геном устойчивости *NN*. Для инфицирования листьев картофеля *in vitro* использовали обыкновенные штаммы следующих фитовирусов: ВТМ, ХВК, МВК и УВК. Концентрацию вируса определяли на спектрофотометре СФ-26 («ЛОМО», Россия) по величине оптической плотности раствора, используя коэффициент экстинкции $E_{260}^{0.1\%} = 1,7$. Определение относительного содержания ВТМ в ткани зараженных растений проводили по тесту инфекционности путем сравнительной оценки числа некрозов на половинках листьев табака.

Эксперименты с иммуностимулирующим действием препаратов. Эксперименты с иммуностимулирующим действием АЗР проводили по схеме, описанной нами ранее (Рожнова, Геращенко, 2002; 2006; *Rozhnova, Gerashchenkov*, 2005), на растениях с 5–6 настоящими листьями. Для определения эффективности формирования локальной антивирусной устойчивости табака в листьях нижнего (первого) яруса и системной антивирусной устойчивости в листьях верхнего яруса (верхний сформировавшийся лист) листья нижнего яруса напыляли карборундом (200 меш) и обрабатывали 0,07 М Na-фосфатным буфером, рН 7,8 (контроль), АЗР в концентрации 10^{-8} М или ВТМ в концентрации 40 мкг/мл в 0,07 М Na-фосфатном буфере, рН 7,8. Экспериментальные и контрольные группы состояли из 15–20 растений. Через семь суток нижние и верхние листья сверхчувствительного табака инокулировали ВТМ в концентрации 40 мкг/мл, растирая препарат ВТМ по поверхности листьев стеклянным шпателем, после чего листья промывали водой. Контролем служили растения, обработанные 0,07 М Na-фосфатным буфером, рН 7,8. Растворы используемых препаратов и ВТМ перед нанесением стерилизовали с помощью фильтров FlowPore D («Sartorius», Германия). Развитие заболевания оценивали по появлению мозаичных симптомов на листьях, учитывали время появления и степень выраженности симптомов. Подсчет некрозов вели на каждом листе инфицированного растения табака на третьи сутки от начала вирусной инокуляции.

Верхние интактные листья каждого растения картофеля в опыте обрабатывали 50 мкл раствора АК в активной концентрации 10^{-8} М, а в контроле – дистиллированной водой. Спустя семь суток эти листья повреждали стерильным пинцетом и на ранку наносили по 10 мкл вирусной суспензии ВТМ

в концентрации 40 мкг/мл и вирусов картофеля в концентрации 50 мкг/мл. Затем методом иммуноферментного анализа через 1, 3, 7, 14, 21 сутки изучали динамику накопления вирусов, как описано в работах (Трофимец и др., 1997; Рожнова и др., 1999).

Растворы препаратов, дистиллированную воду и вирусные инокуляты перед нанесением стерилизовали с помощью фильтров FlowPore D с диаметром пор 0,45 мкм («Sartorius», Германия).

Экстракция водорастворимых белков. Через семь суток после индукции устойчивости были отобраны биологические пробы для исследования спектров водорастворимых белков листьев нижнего и верхнего ярусов. Для экстракции белков использовали две буферные системы: буфер 1 (0,5 М Na-ацетат, 0,5 М сахара, 0,3% β-меркаптоэтанол, pH 4,6) и буфер 2 (50 мМ Трис–HCl, 1 мМ ЭДТА, 0,5 М сахара, pH 8,3).

Навески верхних и нижних листьев табака растирали в фарфоровой ступке в равном объеме (масса : объем) буферного раствора. Гомогенат переносили в микропробирки («Eppendorf», Германия) и центрифугировали в течение 15 минут при 12 000 g («Beckman» J2-21, США) при 4°C. Супернатант разливали дробно в микропробирки и до анализа хранили при – 70°C в морозильной камере MDF 381 AT («Sanyo», Япония). Сравнительный биохимический анализ тотальных белков и изопероксидазы растений картофеля *in vitro* проводили на побегах, срезанных на высоте 1 см от питательной среды и измельченных в ступке с жидким азотом.

Концентрацию белков в образцах определяли согласно модифицированной методике Bradford (1976) по реакции связывания с красителем Кумасси G-250, («Serva», Германия). В качестве стандартного белка использовали бычий сывороточный альбумин. На стартовые участки геля наносили 60 мкг белка.

Электрофорез в денатурирующих условиях. Фракционирование суммарных белков проводили с использованием пластин 10–13% полиакриламидного геля (ПААГ) в присутствии 10% додецилсульфата натрия (ДДС) по модифицированному методу Laemmli (1970) на том же приборе, что и нативный электрофорез. Перед нанесением на гель растворы анализируемых образцов прогревали 2–3 минуты на кипящей водяной бане и центрифугировали 5 минут при 12 000 g («Eppendorf»). Электрофорез, фиксацию, окрашивание и обесцвечивание гелей проводили, как описано выше. В качестве маркеров использовали следующие белки: бычий сывороточный альбумин (66 кД), овальбумин (45 кД), карбоангидраза (29 кД), α-лактоальбумин (14,2 кД) («Sigma»).

Результаты и обсуждение

Известно, что основным механизмом действия иммуностимулирующих антивирусных препаратов является индуцируемая ими системная устойчивость. В предварительных исследованиях было показано, что обработка растений

табака АК, У и Е в концентрации 10^{-7} – 10^{-9} М обеспечивала 90–100% ингибирование репродукции вируса, а концентрация АЗР 10^{-8} М была определена как оптимальная для повышения устойчивости растений к вирусу (Рожнова, Геращенко, 2002; 2006; *Rozhnova, Gerashchenkov*, 2005).

Белковый состав листьев с локальной и системной устойчивостью к ВТМ. Сравнительный анализ белковых спектров верхних и нижних листьев табака при сверхчувствительном ответе, полученных методом электрофореза в ДДС-ПААГ по Laemmli, оказался довольно информативным (рис. 1). Для экстракции белков также были опробованы кислая (а) и основная (б) буферные системы. В обоих случаях в нижних и верхних листьях табака наблюдался спектр белков, состоящий из многих компонентов. Наглядно видно, что изменения белковых спектров были обнаружены в верхних листьях табака ‘Samsun NN’ (с системной устойчивостью) как при ВТМ-инфекции, так и при индуцирующем действии АК, У и Е.

Особого внимания заслуживает то обстоятельство, что в верхних (системно индуцированных) листьях растений табака при действии АЗР и ВТМ-инфекции особенно интенсивно индуцируются белки с молекулярной массой 42–43, 48 и 60 кД (рис. 1б). Следует отметить, что количество этих белков положительно коррелирует с уровнем устойчивости, о которой мы судили по данным о некрозообразовании. В связи с этим нам представляется, что два последних полипептида могут служить молекулярными маркерами активации СИУ, потому что появляются в верхних листьях после обработки листьев индукторами нижнего яруса. Полипептид с молекулярной массой около 40 кД, очевидно, является молекулярным маркером локальной устойчивости при ВТМ-инфекции.

В условиях электрофореза после экстракции в кислой среде в инфицированном варианте по сравнению с контролем особых изменений не обнаружено (рис. 1а). При действии индукторов ряд белковых компонентов в общем спектре этих белков выявляются более четко. Например, в спектре верхних листьев табака в варианте с индукцией устойчивости при действии АК полипептид с молекулярной массой около 50 кД виден наиболее отчетливо. Вероятно, этот полипептид вовлечен в формирование защитных реакций растений.

При щелочной экстракции белков в процессе их электрофоретического разделения наблюдается более контрастная картина. Как видно из рисунка 1б, сопоставление контрольного варианта и варианта с ВТМ-инфекцией табака позволяет заметить различия в интенсивности многих белковых компонентов, отмеченных на рисунке стрелками. При этом в нижних листьях табака с инфицированием ВТМ более контрастны полосы с меньшей молекулярной массой № 1 и 2, а в верхних листьях – № 4 и 7. Таким образом, инфицирование листьев табака ВТМ существенно влияет на активацию синтеза ряда белков как в локально инфицированных нижних листьях, так и системно индуцированных верхних.

Представлялось важным выяснить, какие из белковых компонентов могут специфично индуцироваться ВТМ, индукторами устойчивости либо при действии обоих факторов. Так, низкомолекулярные белки с молекулярной массой 29 кД детектируются очень слабо в контрольном варианте, особенно в верхних листьях. Полипептиды под № 3 (42–43 кД), № 5 (48 кД) и № 6 (60 кД) активируются в верхних листьях в основном при действии индукторов. В отличие от большинства других компонентов, полипептид под № 2 (40 кД) наблюдается в нижних листьях инфицированных растений.

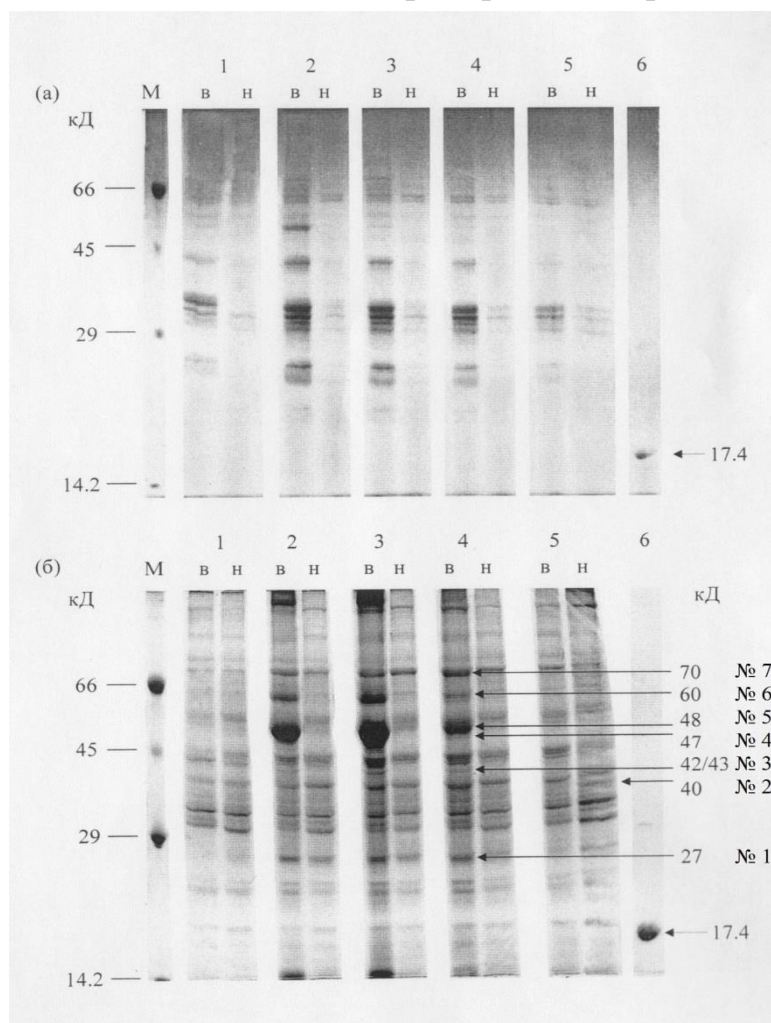


Рис. 1. Гель-электрофорез в денатурирующих условиях белков интактных листьев сверхчувствительного табака сорта Samsun NN (по Laemmlі) спустя 7 суток после обработки индукторами защитных реакций и ВТМ-инфекции

а – белки экстрагированы буфером 1 (рН 4,6), б – белки экстрагированы буфером 2 (рН 8,3). Для электрофоретического анализа использовали 60 мкг белка.

М – белки-маркеры (бычий сывороточный альбумин (66 кД), овальбумин (45 кД), карбоангидраза (29 кД), α -лактоальбумин (14,2 кД)); 1 – 0,07 М фосфатный буфер. рН 7,8 (контроль), 2 – арахидоновая кислота; 3 – убихинон 50, 4 – ацетат альфа-токоферола, 5 – ВТМ-инфекция; 6 – капсидный белок ВТМ; в – верхние листья; н – нижние листья.

По вертикали: № 1 – полипептид 27 кД, № 2 – полипептид 40 кД № 3 – полипептид 42–43 кД, № 4 – полипептид 45 кД, № 5 – полипептид 48 кД, № 6 – полипептид 60 кД, № 7 – полипептид 70 кД.

На основании описанных различий в белковых спектрах листьев табака при действии индукторов и ВТМ-инфекции можно предположить, что развитие системной устойчивости, индуцированной АЗР с одной стороны и ВТМ-инфекцией с другой стороны, происходит с участием разных путей передачи сигналов. Таким образом, в этих экспериментах показано, что развитие антивирусной устойчивости в листьях *N. tabacum* сопровождается появлением новых полипептидных компонентов и количественными изменениями некоторых компонентов белковых спектров. При обработке нижних листьев табака АЗР наблюдали синтез полипептидов с молекулярной массой в пределах 42–70 кД, проявляющийся особенно активно в верхних листьях. Также у табака обнаружен вирусиндуцируемый полипептид с молекулярной массой около 40 кД. Таким образом, ВТМ и исследуемые препараты, а именно АК, У, Е, проявляющие свойства АЗР, являются высокоактивными индукторами антифитовирусной устойчивости у табака сорта ‘Samsun NN’, вызывающими изменения белковых спектров.

Гель-электрофорез белков картофеля в денатурирующих условиях.

С целью изучения иммунизирующего эффекта АК исследовали белковые спектры пробирочных растений картофеля, зараженных вирусными инфекциями, с использованием метода гель-электрофореза в денатурирующих условиях по Laemmli (рис. 2). Полученные спектры содержали компоненты в диапазоне от 15 до 100 кД, что совпадает с описанными в литературе результатами исследования белков микроклубней 119 линий картофеля (Rajapakse et al., 1991). Анализ белковых спектров растений картофеля позволил выявить в варианте ОУ₂ полипептид с молекулярной массой 33 кД, индуцированный УВК-инфекцией (рис. 2б). Обращает на себя внимание то, что молекулярная масса этого белка практически совпадает с таковой одного из капсидных компонентов У-вируса картофеля (33 кД, дорожка 5). Однако отсутствие второго пептидного компонента с молекулярной массой 30 кД в спектре белков растений картофеля при инфицировании УВК дает основание рассматривать выявленный нами белок 33 кД как индуцибельный полипептид растительного происхождения. Правда, такое предположение нуждается в специальном исследовании. Кроме того, выявлены две группы белков, состоящие из 2–3 компонентов с молекулярной массой около 50 кД и более 70 кД, интенсивность полос которых менялась как при инфицировании растений, так и в условиях предобработки АК. Интересно, что в ряде случаев при совместном действии инфекции и предобработки АК в концентрации 10⁻⁸ М интенсивность полос этих белковых компонентов снижалась. Исходя из этого, можно предположить участие этих белковых компонентов в защитных реакциях картофеля против вирусной инфекции.

Наряду с белком 33 кД отмечены и другие белковые компоненты, интенсивность полос которых существенно возросла в некоторых вариантах опытов. Так например, в вариантах АХ₂ и ОУ₂ идентифицировали белковый компонент с молекулярной массой 40 кД, а в варианте АХ₂ – белок с

молекулярной массой около 48 кД. Прежде было показано, что хотя экспрессия генов пшеницы PR 1.1 и PR 1.2 индуцировалась инфекцией как совместимых, так и несовместимых изолятов грибного патогена *Erysiphe graminis*, эти гены не реагировали на действие таких активаторов системной индуцированной устойчивости, как салициловая кислота, бензотиадиазол или изоникотиновая кислота (Molina et al., 1999). Следовательно, при действии индукторов устойчивости авторы цитируемой работы не отмечали появление дополнительных компонентов в белковых спектрах, несмотря на то что наблюдали при этом активацию системной устойчивости.

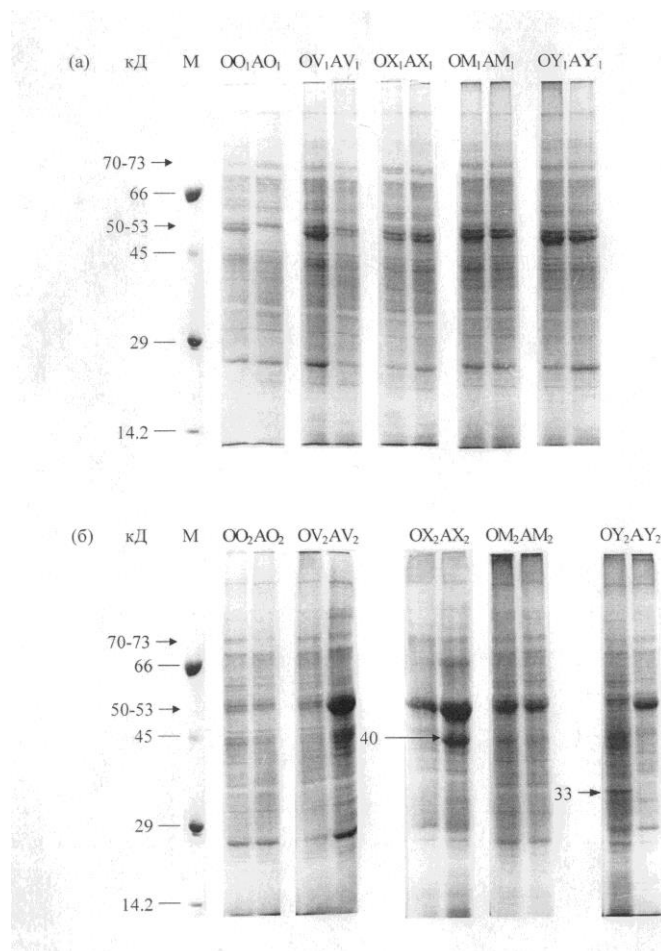


Рис. 2. Гель-электрофорез в денатурирующих условиях белков картофеля *in vitro* при иммуностимулирующем действии арахидоновой кислоты

Варианты обработки растений: первой букве соответствует иммуностимулятор (0 – вода, А – арахидоновая кислота), второй букве – один из вирусов (0 – вода, V – ВТМ, X – ХВК, М – МВК, Y – YВК), цифре 1 или 2 – момент отбора пробы (спустя одну или две недели после вирусной инокуляции); а – инокуляция вирусами через одну неделю после обработки АК, б – через две недели соответственно. М – белки-маркеры молекулярной массы: бычий сывороточный альбумин (66 кД), овальбумин (45 кД), карбоангидраза (29 кД), α – лактоальбумин (14,2 кД).

Таким образом, сравнительный анализ белковых спектров растений картофеля и табака, иммунизированных антифитовирусными препаратами, дает основания полагать, что формирование системной антивирусной устойчивости,

индуцированной активатором защитных реакций растений, происходит при участии белков.

Заключение

Эффект пролонгированного антивирусного действия препаратов сохраняется в инфицированных растениях картофеля не менее 2–3 недель.

Антивирусная активность препаратов подтверждается различной динамикой накопления ХВК у иммунизированных (предобработанных) и неиммунизированных растений картофеля при вирусных инфекциях.

Формирование системной устойчивости у толерантного к вирусам картофеля при действии препаратов и инфицировании фитовирусами сопровождается:

– ослаблением синтеза белков с молекулярной массой в диапазоне 50–73 кД;

– накоплением индуцибельных белков, например при инфицировании УВК детектируется специфический белок 33 кД.

ВТМ и исследуемые препараты, проявляющие свойства АЗР, являются высокоактивными индукторами антифитовирусной устойчивости у табака сорта ‘Samsun NN’, вызывающими изменения белковых спектров.

На основании анализа всех экспериментальных данных высказано предположение о наличии у растений картофеля альтернативных путей формирования системной устойчивости, специфически активируемой вирусной инфекцией и активаторами защитных реакций.

Литература

- Лахматова И. Т.* Индукция устойчивости растений к вирусам биологически активными веществами (иммунизация) // С-х. биология. 1992. № 3. С. 13–21.
- Рожнова Н. А., Геращенко Г. А.* и др. Эмистим – индуктор устойчивости к вирусным болезням пасленовых // Аграрная Россия. 1999. № 1. С. 35–38.
- Рожнова Н. А., Геращенко Г. А.* Элиситорное действие убихинона 50 на формирование антивирусной устойчивости у растений семейства Solanaceae Juss // Докл. РАН. 2002. Т. 382. С. 547–549.
- Рожнова Н. А., Геращенко Г. А.* Гормональный статус растений табака Самсун NN под действием синтетического коэнзима Q₁₀ (убихинона 50) и ВТМ-инфекции // Известия РАН. Серия биологическая. 2006. № 5. С. 581–590.
- Трофимец Л. Н., Озерецковская О. Л.* и др. Индуктор устойчивости пасленовых к возбудителям вирусных болезней: Патент N 2072779 (Россия) // Б.И. 1997. № 4. С. 143.
- Bradford M. M.* A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgramm Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein dye Binding // Anal. Biochem. 1976. V. 72. P. 248–254.
- Grant M., Lamb C.* Systemic immunity // Curr. Opin. Plant Biol. 2006. V. 9. P. 414–420.
- Kang B. C., Yeam I et al.* Genetics of plant virus resistance // Annu. Rev. Phytopathol. 2005. V. 43. P. 581–621.

- Laemmli U. K.* Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage // *Nature*. 1970. V. 227. P. 680–685.
- Molina A.* et al Wheat genes encoding two types of PR-1 proteins are pathogen inducible, but do not respond to activators of systemic acquired resistance // *Mol. Plant Microbe Interact.* 1999. V. 12. P. 53–58.
- Rajapakse D. P.* et al Analysis of potato microtuber proteins by sodium dodecylsulfate polyacrylamide gel electrophoresis // *Potato Research*. 1991. V. 34. P. 285–293.
- Ryan C. A., Pearce C.* Production multiple plant hormones from a single polyprotein precursor // *Nature*. 2001. V. 411. P. 817–820
- Rozhnova N. A., Gerashchenkov G. A.* Alpha-tocopherol is able to induce a systemic acquired resistance to viral damage of potato plants in vitro // *Proc. Latvian Acad. Sci.* 2005. V. 59. P. 63–66.

УДК 634.1:631.524.7.85/86:631.526

СЕЛЕКЦИОННОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ АДАПТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА И КАЧЕСТВА ПЛОДОВ

Н. И. Савельев, Н. Н. Савельева

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и селекции плодовых растений им. И. В. Мичурина, г. Мичуринск, Россия, e-mail: cglm@rambler.ru

Резюме

Выявлен потенциал устойчивости плодовых культур к низким температурам, устойчивости к болезням. На основе ДНК-маркеров выделены доминантные гомозиготные генотипы (V_fV_f) яблони по устойчивости к парше, а также исходные формы, несущие аллели, ответственные за сниженный уровень синтеза в плодах (*Md-ACS1* и *Md-ACO1*) этилена и экспансина (*MD-Exp7*). С использованием в селекции генетической коллекции созданы новые сорта яблони, груши, вишни, сливы с высоким адаптивным потенциалом, продуктивностью и качеством плодов.

Ключевые слова: плодовые культуры, гибридные сеянцы, устойчивость к низким температурам, парша, качество плодов, ДНК-маркеры, доноры.

UTILIZATION OF THE FRUIT CROP GENETIC COLLECTION IN BREEDING FOR HIGHER ADAPTIVE POTENTIAL AND FRUIT QUALITY

N. I. Savelyev & N. N. Savelyeva

I. V. Michurin All-Russian Research Institute of Fruit Plant Genetics and Breeding, Michurinsk, Russia, e-mail: cglm@rambler.ru

Summary

Resistance potential of cultivated fruit plants to low temperatures and diseases have been disclosed. On the basis of DNA markers, dominant homozygous genotypes (V_fV_f) of apple have been identified for scab resistance, and initial forms carrying alleles responsible for lower levels of ethylene (*Md-ACS1* и *Md-ACO1*) and expansin (*MD-Exp7*) synthesis have been selected. Utilizing the genetic collection in breeding practice resulted in releasing new apple, pear, sour cherry and plum cultivars with high adaptive potential, productivity and fruit quality.

Keywords: cultivated fruit plants, hybrid seedlings, resistance to low temperatures, scab, fruit quality, DNA markers, donors.

Введение

Плодовые культуры являются источником витаминов, микроэлементов, сахаров, органических кислот, ферментов и других биологически активных веществ и служат важнейшей, незаменимой составной частью качественного здорового питания, обеспечивающей здоровье и долголетие человека.

Между тем в 2013 году произведено 66 кг фруктов и ягод на душу населения, при медицинской норме потребления – не менее 110 кг. По данным Росстата и Министерства сельского хозяйства РФ, уровень самообеспечения плодами и ягодами в настоящее время составляет около 32%.

Одним из путей повышения продуктивности плодовых насаждений является освоение в производстве новых сортов с высокой адаптационной способностью и продуктивностью. К настоящему времени отечественными селекционерами достигнуты определенные успехи в создании новых сортов плодовых культур. В Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию в 12 регионах России, внесено 547 семечковых и 408 косточковых плодовых культур, причем более 185 сортов охраняются патентами. Однако не все сорта в полной мере отвечают современным требованиям, и предел улучшения их потенциальных возможностей пока еще не достигнут.

Как неоднократно отмечали Н. И. Вавилов (1935), И. В. Мичурин (1948), успех в создании новых сортов в значительной степени определяется исходным материалом и правильным подбором родительских пар, базирующимся на знании генетических особенностей селективируемых признаков.

Целью настоящих исследований было изучение потенциала устойчивости генетической коллекции плодовых культур к низким температурам, болезням и другим значимым признакам, а также возможности использования ДНК-технологий в отборе ценных генотипов.

Материалы и методы

Материалом для исследований служили дикие виды и разновидности рода *Malus* Mill., а также сорта и гибридные сеянцы, полученные в результате скрещиваний родительских форм различного генетического и эколого-географического происхождения. Работы по гибридизации, выращиванию и изучению исходных форм и гибридных сеянцев проводили в соответствии с общепринятыми программой и методикой (Седов, 1995).

Экстракция геномной ДНК осуществлялась по методу D. A. Puchooa (2004). Для идентификации гена V_f использовались праймеры VfC, AL07-SCAR и AM 19-SCAR (Tartarini, 1999). Для анализа аллельного состояния генов, вовлеченных в биосинтез этилена и экспансина, была проведена амплификация геномной ДНК с праймерами Md-ACS1, Md-ACO1 и MD-Exp7^{SSR} (Costa et al., 2005; 2008).

Результаты и обсуждение

В институте продолжается формирование генетической коллекции плодовых культур, которая насчитывает около 6 тыс. генотипов. Селекционное использование генетической коллекции служит базой для повышения адаптивного потенциала и других значимых признаков новых сортов.

Наибольшим потенциалом устойчивости к низким температурам в середине зимовки характеризуются виды и разновидности из серии Ягодные яблони (*Baccatae* Rehd.), у которых после промораживания при -40°C степень подмерзания коры, камбия и древесины не превышала 1,0 балла. Не выявлено существенных различий по устойчивости к низким температурам между видами *Malus baccata* (L.) Borkh., *M. mandshurica* (Maxim.) Kom. и *M. sachalinensis* (Kom.) Juz., что подтверждает мнение некоторых исследователей, основанное на JTS1 последовательности, об объединении этих форм в один вид *M. baccata*.

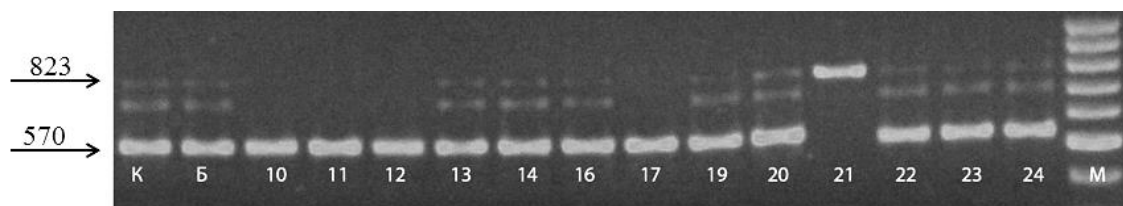
Секция настоящие яблони (*Malus*) включает в себя виды и разновидности с различным уровнем устойчивости к низким температурам. Яблоня восточная [*M. orientalis* (Uglitzk.) Juz.] по морозостойкости не уступает 'Антоновке обыкновенной' (*M. domestica* Borkh.). При -40°C ткани коры и камбия у этих форм не имели подмерзаний, а степень подмерзания древесины колебалась от 1,3 до 1,6 балла. Из анализируемой секции недостаточно устойчивы к низким температурам виды *M. turkmenorum* Juz. et. M. Pop., *M. ×purpurea* (Barbier) Rehd., *M. ×purpurea* var. *eleyi* (Bean) Rehd., *M. ×spectabilis* var. *rubra plena* (Ait.) Borkh., степень подмерзания древесины у которых колебалась от 3,0 до 4,2 балла. Недостаточной морозостойкостью с повреждением древесины при -40°C от 2,7 [*M. sieboldii* (Regel) Rehd.] до 4,0 баллов (*M. scheideckeri* Spach ex Zabel) также характеризуются виды из серии яблони Зибольда (*Sieboldianae* Rehd.).

Сорта 'Абориген', 'Амурское урожайное', 'Боганенок', 'Горноалтайское', 'Багратион', 'Дальневосточное раннее', 'Летнее полосатое', 'Налив амурский', 'Павлуша', 'Пепинчик красноярский' и др. без повреждений коры, камбия и почек способны выдерживать понижение температуры в зимний период до -40°C . Высоким потенциалом устойчивости к морозам также обладают сорта народной селекции 'Мирон сахарный', 'Ивановка', 'Грушовка московская', 'Шелковка', 'Зеленка сочная' с незначительным подмерзанием древесины до 1,0 балла. В качестве доноров устойчивости к низким температурам также заслуживают внимания сорта 'Антоновка обыкновенная', 'Вымпел', 'Флагман' и сорта южной зоны 'Память Есаулу', 'Прикубанское', обладающие высокими эффектами общей комбинационной способности.

Устойчивость плодовых культур к биотическим стрессорам является одним из факторов повышения их адаптивного потенциала. С использованием в гибридизации носителей эффективных генов устойчивости (V_f) и доноров полигенной устойчивости к парше получены новые высокопродуктивные (240–350 ц/га), зимостойкие (до -40°C), иммунные к парше (ген V_f) с высоким качеством плодов сорта яблони 'Красуля' (летнего срока созревания), осеннего – 'Скала', 'Успенское', зимнего – 'Академик Казаков', 'Благовест', 'Былина', 'Вымпел', 'Флагман', 'Фрегат', 'Чародейка', внесенные в Госреестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Сорта зимнего срока потребления представляют значительный интерес для промышленного садоводства. Они вступают в плодоношение на полукарликовом подвое 54-118

на 2–4 год. Прибыль по этим сортам превышает показатель контрольных сортов ‘Жигулевское’ и ‘Богатырь’ в 1,6–3,1 раза.

Для скрининга устойчивых к парше генотипов применяются ДНК-маркеры. Амплификация геномной ДНК сортов и гибридных форм яблони с праймером AL07-SCAR позволила идентифицировать аллельные состояния гена V_f . Установлено, что сорта ‘Былина’, ‘Белорусское сладкое’, ‘Валюта’, ‘Кандиль орловский’, ‘Успенское’ содержат ген V_f в гетерозиготном состоянии. В гибридном потомстве выделены сеянцы с доминантным гомозиготным, гетерозиготным и рецессивным гомозиготным состоянием гена V_f (рисунок).



Электрофореграмма продуктов амплификации ДНК сеянцев яблони гибридной семьи Кандиль орловский × Былина с праймером AL07-SCAR

К – Кандиль орловский, Б – Былина, 10–24 – гибридные сеянцы,
М – маркер молекулярного веса

Фрагмент размером 570 пн свидетельствует о наличии доминантного аллеля гена (V_f), фрагмент размером 823 пн свидетельствует о наличии рецессивного аллеля гена (v_f)

В комбинации скрещивания ‘Кандиль орловский’ × ‘Былина’ количество сеянцев с генотипом V_fV_f составило 22,9%, с генотипом V_fv_f – 56,2%, с генотипом v_fv_f – 20,8%. Статистический анализ частот распределения аллелей гена V_f в гибридном потомстве яблони по критерию χ^2 показал, что с вероятностью 95% фактическое расщепление по фенотипу соответствует теоретическому 3:1; по генотипу – 1:2:1.

На основе ДНК-маркеров и полиморфизма видов по аллелям генов лежкости ($Md-ACS1$ и $Md-ACO1$) и качества плодов ($MD-Exp 7$) выделены генотипы со сниженным уровнем синтеза в плодах этилена и экспансина. Установлено, что форма *M. sylvestris* Mill. (41639) несет аллель гена $Md-ACS1$ в гомозиготном и гена $Md-ACO1$ в гетерозиготном состоянии и является донором длительной лежкости плодов. Дикие виды *M. turkmenorum* (29421) и *M. ×purpurea* var. *eleyi* являются носителями аллелей генов $MD-Exp 7-1$ (198 пн) и $MD-Exp 7-2$ (202 пн), обуславливающих более низкий уровень биосинтеза экспансина, а следовательно, сохраняющих твердость мякоти плодов при длительном хранении.

Благодаря использованию в гибридизации производных груши уссурийской (*Pyrus ussuriensis* Maxim.) и груши обыкновенной (*P. communis* L.) в институте создано 28 сортов груши, 21 из которых включен в Госреестр. Из 128 районированных сортов груши по России более 16% приходится на сорта селекции Всероссийского научно-исследовательского института генетики и

селекции плодовых растений им. И. В. Мичурина. Наиболее высокие показатели по получению прибыли на 1 га (более 250 тыс. руб.) и рентабельности (более 200%) имели сорта 'Августовская роса', 'Памяти Яковлева', 'Чудесница' с комплексной устойчивостью к парше, септориозу и энтомоспориозу.

Созданы сорта вишни ('Харитоновская', 'Фея') с генетической устойчивостью к коккомикозу – наиболее вредоносному заболеванию этой культуры.

В последние годы созданы ценные крупноплодные генотипы черешни с массой плодов до 12 г. В 2013 г. в Госсортоиспытание передан крупноплодный сорт черешни 'Креолка' с темноокрашенными плодами и хрящеватой мякотью плодов. Также получены новые крупноплодные сорта абрикоса, из которых сорт 'Цезарь' в 2013 г. передан в Госсортоиспытание. Он характеризуется достаточной устойчивостью к низким температурам, крупноплодностью (масса плодов 43,7 г) и высокими вкусовыми качествами плодов.

Для производственного испытания и использования рекомендуются высокопродуктивные, устойчивые к неблагоприятным абиотическим и биотическим факторам, с крупными плодами высоких вкусовых достоинств сорта сливы 'Заречная ранняя', 'Конфетная', 'Радость', 'Светлячок'.

Заключение

Таким образом, на основе изучения генетической коллекции плодовых культур выделены генотипы с высоким потенциалом устойчивости к низким температурам и устойчивости к болезням. С помощью ДНК-маркеров из гибридной семьи 'Кандиль орловский' × 'Былина' выделены генотипы, гомозиготные по доминантному аллелю гена устойчивости к парше (V_fV_f), а также источники генов, контролирующих сниженный уровень синтеза в плодах этилена (*Md-ACS1*, *Md-ACO1*) и экспансина (*Exp7*). На основе генетической коллекции созданы новые сорта яблони, груши, вишни, сливы с высоким адаптивным потенциалом, продуктивностью и качеством плодов.

Литература

- Вавилов Н. И. Учение об иммунитете растений к инфекционным заболеваниям. М.–Л., 1935. 100 с.
- Мичурин И. В. Сочинения. М., 1948. Т. IV. С.227.
- Седов Е. Н. Программа и методика селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур. Орел, 1995. 502 с.
- Costa F. Role of the genes *Md-ACO1* and *Md-ACS1* in ethylene production and shelf life of apple (*Malus domestica* Borkh.). *Euphytica*. 2005. V. 141. P. 181–190.
- Costa F. Map position and functional allelic diversity of *Md-Exp7*, a new putative expansin gene associated with fruit softening in apple (*Malus domestica* Borkh.) and pear (*Pyrus communis*) // *Tree Genetics & Genomes*. 2008. V. 4. P. 575–586.
- Puchooa D. A. Simple, rapid and efficient method for the extraction of genomic DNA from

lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) // African Journal of Biotechnology. 2004. V. 3. № 4. P. 253–255.

Tartarini S. Development of reliable PCR markers for the selection of the V_f gene conferring scab resistance in apple // Plant Breeding. 1999. V. 118. P. 183–186.

СОДЕРЖАНИЕ

История ВИР, славные имена

- Трускинов Э. В., Киру С. Д.** Выдающиеся ученые-картофелеводы ВИР: вклад в развитие коллекции, селекции и систематики картофеля 5

Мобилизация и сохранение генетического разнообразия культурных растений: возможности и перспективы

- Наумова Л. Г., Ганич В. А.** Сохранение генофонда винограда аборигенных донских сортов 13
- Привалов Ф. И., Гриб С. И., Матыс И. С.** Государственная программа «Генофонд» – основа формирования национального банка генетических ресурсов растений Беларуси 18
- Сабитов А. Ш., Чебукин П. А., Чжан Ц., Бурляева М. О.** Мобилизация генетического разнообразия диких родичей культурных растений Дальнего Востока России и Северо-Восточного Китая (по материалам экспедиций ДВОС ВИР 2001–2013 гг.) 28

Идентификация генетического разнообразия культурных растений и их диких родичей для решения фундаментальных и прикладных проблем

- Абугалиева С. И., Байбосынова С. М., Кондыбаев А. Б., Подольских А. Н., Туруспеков Е. К.** Генетическое и фенотипическое разнообразие коллекции риса в Казахстане 46
- Анисимова А. В., Абдуллаев Р. А.** Скрининг дагестанских ячменей по устойчивости к сетчатой и темно-бурой пятнистостям 60
- Анисимова И. Н., Гаврилова В. А., Алпатьева Н. В., Кузнецова Е. Б., Карабицина Ю. И., Рожкова В. Т.** Коллекция подсолнечника в исследованиях генетических механизмов восстановления фертильности пыльцы 65
- Гаркушка В. Г., Фролов А. Н., Грушевая И. В.** Генетическое разнообразие кукурузы и устойчивость к кукурузному мотыльку 75
- Лебедева М. В., Теплякова С. Б.** Молекулярное маркирование локуса *VRN-H2* у ячменя с помощью мультиплексной ПЦР 82
- Поморцев А. А., Болдырев С. В., Лялина Е. В.** Комплекс полиморфных локусов, контролирующих белки семян для идентификации сортов ячменя 87
- Радченко Е. Е., Кузнецова Т. Л., Малиновская Е. В.** Доноры эффективных генов устойчивости сорго к обыкновенной злаковой тле для селекции в Краснодарском крае 92
- Рожнова Н. А., Геращенко Г. А.** Белковые и биохимические маркеры при системной индуцированной устойчивости к фитовирусам у растений табака и картофеля 99
- Савельев Н. И., Савельева Н. Н.** Селекционное использование генетической коллекции плодовых культур для повышения адаптивного потенциала и качества плодов 109

CONTENTS

History of VIR: names of renown

- Trouskinov E. V., Kiru S. D.** Prominent potato researchers at VIR: their contribution in potato gene pool development, systematics and breeding .. 5

Collecting and conservation of plant genetic diversity: possibilities and prospects

- Naumova L. G., Ganich V. A.** Preserving the gene pool of indigenous grape varieties in the Don River valley 13
- Pryvalau F. I., Grib S. I., Matys I. S.** National Genetic Diversity Programme as the basis for the development of the national genebank of plant genetic resources in the Republic of Belarus 18
- Sabitov A. S., Chebukin P. A., Zhang R. Burlyaeva M.O.** Collecting genetic biodiversity of crop wild relatives in the Russian Far East and North-East China (materials of FEES/VIR missions from 2001 to 2013) 28

Identifying genetic diversity of cultivated plants and their wild relatives to resolve fundamental and practical problems

- Abugalieva S. I., Baibosynova S. M., Kondybaev A. B., Podolskih A. N., Turuspekov E. K.** Genetic and phenotypic diversity of the rice collection in Kazakhstan 46
- Anisimova A. V., Abdullaev R. A.** Screening of barley from Daghestan for net and spot blotch resistance 60
- Anisimova I. N., Gavrilova V. A., Alpatieva N. V., Kuznetsova E. B., Karabitsina Y. I., Rozhkova V. T.** Sunflower collection in the research on genetic mechanisms of pollen fertility restoration 65
- Garkushka V. G., Frolov A. N., Grushevaya I. V.** Genetic diversity of maize and its resistance to European corn borer 75
- Lebedeva M. V., Teplyakova S. B.** Molecular marking of the *VRN-H2* locus in barley using multiplex PCR 82
- Pomortsev A. A., Boldyrev S. V., Lyalina L. V.** The complex of polymorphic loci encoding seed proteins for identification of barley varieties 87
- Radchenko E. E., Kuznetsova T. L., Malinovskaya E. V.** Donors of effective genes of greenbug resistance in sorghum for breeding in Krasnodar Region 92
- Rozhnova N. A., Gerashchenkov G. A.** Protein and biochemical markers as applied to induced systemic resistance of tobacco and potato to plant viruses 99
- Savelyev N. I., Savelyeva N. N.** Utilization of the fruit crop genetic collection in breeding for higher adaptive potential and fruit quality department of grain legume genetic resources in 2008–2013 109

Научное издание

**ТРУДЫ ПО ПРИКЛАДНОЙ БОТАНИКЕ,
ГЕНЕТИКЕ И СЕЛЕКЦИИ, ТОМ 175, ВЫПУСК 4**

Технический редактор *В. Г. Лейтан*
Компьютерная верстка *Л. Ю. Шипиловой*

Подписано в печать 26.12.2014 Формат бумаги 70×100^{1/16}
Бумага офсетная. Печать офсетная
Печ. л. 6,625 Тираж 300 экз. Зак.26/13

Сектор редакционно-издательской деятельности ВИР
190000, Санкт-Петербург, Большая Морская ул., 44

ООО «Р – КОПИ»
Санкт-Петербург, пер. Гривцова, 6^Б