

8. Молекулярные маркеры в решении проблем генетических ресурсов растений и селекции (под ред. А.В.Конарева) // Аграрная Россия. 2002. № 3. С.4-65.
9. Allard R.W. Genetic basis of the evolution of the adaptedness in plants. Adaptation in plant Breeding (Ed. P.M.A. Tigerstedt). 1997:1-12.
10. Boerner A., Chebotar S., Korzun V. Molecular characterization of the genetic integrity of wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm after long-term maintenance // Theor.Appl. Genet. 2000. V.100. P.494-497.
11. Hodgkin T. Some current issues in the conservation and use of plant genetic resources. Molecular genetic techniques for plant genetic resources // Report of an IPGRI Workshop, October 1995, Rome, Italy. 1997. P. 3-10.
12. A.Konarev, N.Gubareva, D.Kornuchin, A.Berner. Gliadin electrophoretic analysis of the genetic integrity of wheat (*Triticum aestivum* L.) accessions after frequent seed reproduction // Genetic Resources and Crop Evolution. 2005. V. 52. P. 519-523
13. Konarev A.V., Vvedenskaya I.O., Nasonova E.A. and Perchuk I.N. Use of prolamine polymorphism in studing genetic resources of forage grasses // Genetic Resources and Crop Evolution. 1995. V. 42. P.197-209.

### СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МЕСТНЫХ СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ, ОТОБРАННЫХ ИЗ ТРЕХ МИРОВЫХ КОЛЛЕКЦИЙ, ПО СТРУКТУРЕ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ

Стрельченко П.П.<sup>1</sup>, Митрофанова О.П.<sup>1</sup>, Малышев Л.Л.<sup>1</sup>, Стрит К.<sup>2</sup>, Маккей М.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, [p.strelchenko@vir.nw.ru](mailto:p.strelchenko@vir.nw.ru), <sup>2</sup>Международный центр сельскохозяйственных исследований засушливых регионов (ICARDA), Алеппо, Сирия, <sup>3</sup>Австралийская коллекция зимних злаков (AWCC), Тамворс, Австралия

Во всем мире уделяют особое внимание сохранению стародавних местных сортов (landraces), считая их потенциально полезными источниками аллелей генов и полигенных систем, обуславливающих устойчивость и толерантность пшеницы к различным неблагоприятным абиотическим и биотическим факторам внешней среды. Десятки тысяч местных сортов сохраняются в семенных банках и на полях фермеров, но большинство из них неадекватно описано и изучено для того, чтобы они могли быть использованы в качестве исходного материала в селекции пшеницы. В настоящей работе на основе сравнения структуры микросателлитных (МС) локусов мы попытались изучить генетическое сходство между местными сортами пшеницы, собранными в разных агроэкологических зонах и сохраняемыми в трех крупных мировых коллекциях, а также оценить возможности использования микросателлитов для улучшения процесса управления коллекциями генетических ресурсов пшеницы.

#### Материал и методы

Около 16 тыс. местных сортов из трех мировых коллекций были объединены в единую виртуальную коллекцию. Для большинства сортов были определены географические

координаты мест сбора (широта и долгота). Для всех мест сбора составлены климатические и эдафические характеристики. Из этой общей коллекции для анализа в настоящей работе было отобрано 976 местных сортов, которые представляли 675 мест экспедиционных сборов. Данная выборка сортов содержала 451 образец из коллекции ВИР, 338 – из ICARDA и 187 – из коллекции AWCC. Образцы происходили из различных агроэкологических зон (в соответствии с классификацией ФАО) и были собраны в 48 странах Европы, Азии и Африки.

ДНК выделяли из единичных проростков (брали один случайный генотип из каждого образца). В работе применили 13 пар олигонуклеотидных праймеров, которые амплифицировали в полимеразной цепной реакции (ПЦР) 13 МС-локусов ДНК, локализованных в разных хромосомах пшеницы (Baulforier et al., 2007). ПЦР-реакции проводили в термоциклере Applied Biosystems 9700 по следующей схеме: сначала ДНК денатурировали в течение 5 мин при 95°C, затем осуществляли 34 цикла амплификации (30 с при 95°C, 30 с при 45°C - 60°C в зависимости от праймера, 30 с при 72°C), и наконец заключительный синтез продуктов проводили в течение 5 мин при 72°C (Röder et al., 1998). Для дальнейшего анализа готовили смеси, состоящие из продуктов амплификации, полученных с двумя или тремя парами праймеров, меченых разными флюоресцентными красителями. Эти смеси анализировали в автоматическом секвенаторе Applied Biosystems 3730. Размеры фрагментов ДНК определяли с использованием программного обеспечения ABI PRISM GeneMapper v. 3.0.

Амплифицированные фрагменты ДНК разной длины учитывали как различающиеся аллели МС-локуса, которые при составлении бинарной матрицы исходных данных кодировали цифрами 1 или 0, что обозначало наличие или отсутствие каждого аллеля у данного локуса. На основе исходной матрицы данных строили матрицу коэффициентов сходства генотипов по Нею и Ли (Nei & Li, 1979). Последнюю использовали для кластеризации сортов методом Уорда (Ward, 1963), основанном на принципе минимизации внутрикластерной дисперсии. Все расчеты и графические построения проводили с использованием пакетов программ MVSP 3.1 и STATISTICA 6.0. Величину индекса полиморфизма для каждого МС локуса рассчитывали по формуле:  $PI=1 - \sum P_i^2$ , где  $P_i$  - есть встречаемость каждого аллеля локуса. Для представления географического распространения сортов использовали программу MapInfo.

## Результаты и обсуждение

Число аллелей, выявленных для МС локусов *Xgwm46* (хромосома 7 В), *Xgwm149* (4 В), *Xgwm186* (5 А), *Xgwm190* (5 D), *Xgwm257* (2 В), *Xgwm261* (2 D), *Xgwm285* (3 В), *Xgwm341* (3 D), *Xgwm413* (1 В), *Xgwm437* (7 D), *Xgwm469* (6 D), *Xgwm610* (4 А), *Xgwm626* (6 В) было 26, 13, 32, 18, 5, 22, 26, 27, 20, 26, 19, 20 и 15, соответственно. Среднее число аллелей на локус составило 20,7, а их встречаемость варьировала от 0,001 до 0,543, составив в среднем 0,048. Из 269 выявленных аллелей 191 (71,0%) имели встречаемость менее 0,05 и рассматривались как редкие аллели. Среди них 40 аллелей (14,9% от общего числа) являлись уникальными: они были выявлены только у одного из изученных генотипов. В каждом из изученных локусов было выявлено от двух до четырех аллелей имеющих встречаемость более 0,10 и только два аллеля (*Xgwm261*<sub>176</sub> и *Xgwm626*<sub>104</sub> в хромосомах 2D и 6В, соответственно) встречались у половины и более исследованных генотипов. В выборке из 976 генотипов, изученных по структуре 13 МС-локусов, было выявлено 937 различающихся комбинаций аллелей. При этом идентифицировали 21 блок, каждый из которых содержал от двух до девяти идентичных генотипов. Чаще всего такие блоки были представлены сортами, взятыми из одной и той же коллекции и были собраны либо в одном месте, либо в географически близких местах. Условно их можно считать дублетными образцами в коллекциях. Учитывая различия в количестве сортов, отобранных из

разных коллекций, можно заключить, что все три коллекции имеют приблизительно одинаковый уровень аллельного разнообразия МС-локусов. В общей сложности 194, 210 и 236 аллелей было выявлено у сортов, отобранных из коллекций AWCC, ICARDA и ВИР, соответственно. Среди этих аллелей число специфичных для каждой из них соответственно было 10, 19 и 32, а величины индекса полиморфизма сортов этих коллекций, средние по всем 13 МС-локусам, составили 0,81, 0,79 и 0,82.

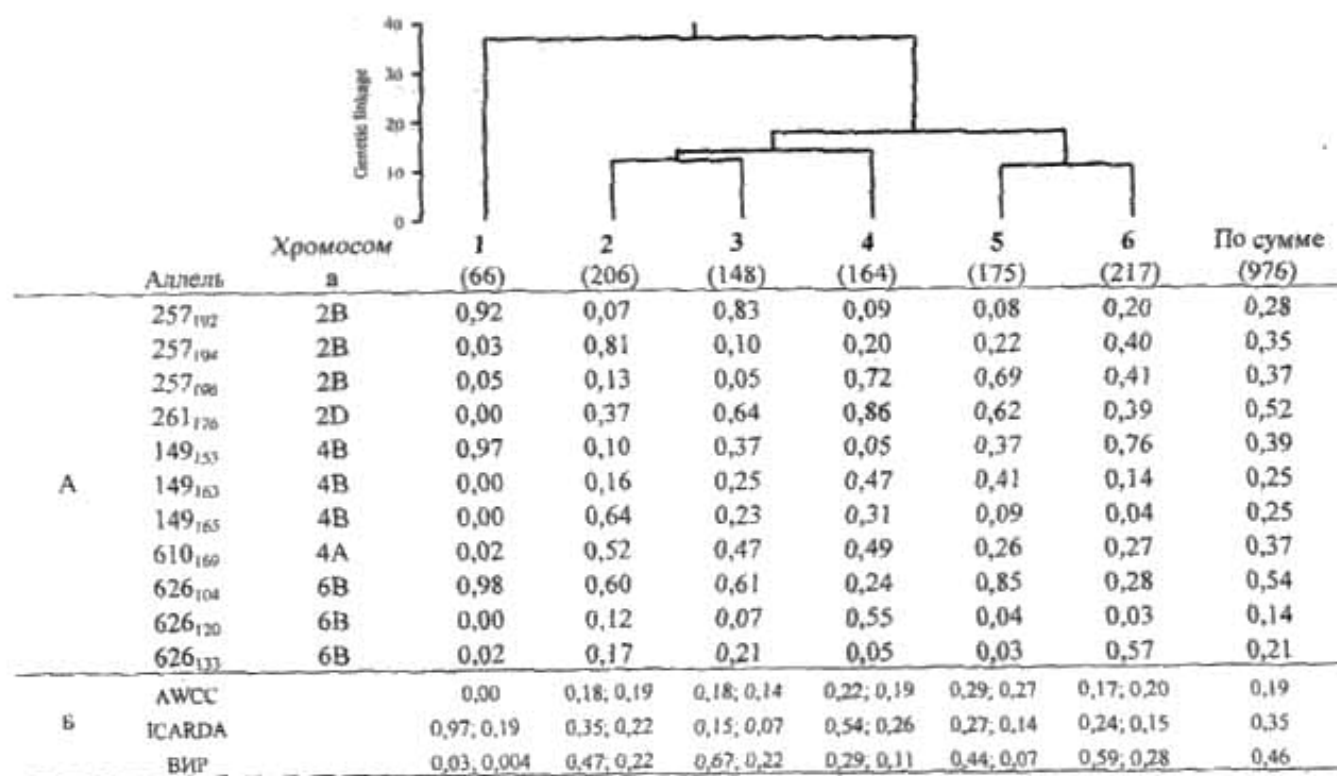


Рис. 1. Распределение шести групп местных сортов пшеницы на дендрограмме, построенной по результатам изучения структуры 13 микросателлитных локусов у 976 генотипов. В присоединенной таблице: А – встречаемость ряда аллелей у сортов отдельных групп и всей выборки; Б – доля числа сортов, отобранных из разных коллекций, по отношению к числу сортов в каждой группе (первое значение) или по отношению к общему числу сортов, представляющему каждую из коллекций (второе значение).

Для всех возможных пар сравнений сортов средняя величина коэффициента сходства составила 0,18. В кластерном анализе был выявлен сложный характер генетических взаимосвязей сортов. Все они объединились в шесть групп (рис. 1). Группа 1 объединила 38 сортов из Туниса и 21 – из Алжира. Сорта этой группы были отобраны из коллекции ICARDA и оказались сходны между собой как по структуре МС-локусов, так и по морфологии, но значительно отличались от сортов других групп. Анализ истории интродукции сортов группы 1 позволил заключить, что они представляют собой линии, отобранные из нескольких местных сортов пшеницы, полученных из Италии (Bari Germplasm Institute). В группах 2-6 объединились сорта, происходящие из разных регионов, однако сорта из Центральной Азии преимущественно вошли в группы 2-4, а из Европы и Африки – в группы 5-6. Сорта из регионов Кавказа объединились главным образом в группах 2 и 3. Все выявленные группы существенно различались по встречаемости большого числа аллелей. Так, например, на рис. 1 приведены величины встречаемости 11 аллелей в группах. При анализе представительства сортов разных

коллекций в составе выявленных групп было обнаружено аномальное превышение доли сортов из коллекции ВИР в группе 3 (за счет местных сортов из республик Средней Азии) и 6 (за счет сортов из России, стран СНГ и Европы). Анализ географического распространения генотипов определенных сортов показал, что наибольшим аллельным разнообразием МС-локусов обладают сорта, происходящие из регионов Центральной Азии и Кавказа. На рис. 2 представлено географическое распространение генотипов, содержащих три аллеля локуса *Xwgt 46*. Из приведенных данных можно предположить их первичное происхождение в Центральной Азии и последующее распространение в Европу и Африку.

Работа выполнена при поддержке австралийской корпорации по исследованию и распространению зерновых культур (Australian Grains Research and Development Corporation).



Рис. 2. Географическое распространение сортов пшеницы, генотипы которых имеют аллели МС-локуса *Xwgt 46*, размером 165 (▲), 167 (○) и 169 (◆) п. н.

### Библиография

- Balfourier F., Roussel V., Strelchenko P. et al.* A worldwide bread wheat core collection arrayed in a 384-well plate // *Theor. Appl. Genet.* 2007. Vol. 114. P. 1265–1275.
- Nei M., Li W.-H.* Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1979. Vol. 76. P. 5269-5273.
- Röder M.S., Korzun V., Wendehake K. et al.* A microsatellite map of wheat // *Genetics.* 1998. Vol. 149. P. 2007-2023.
- Ward J.H. Jr.* Hierarchical grouping to optimize an objective function // *J. Am. Stat. Assoc.* 1963. Vol. 58. P. 236-244.