

**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК**  
**ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ**  
**«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**  
**ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ**  
**РАСТЕНИЕВОДСТВА им. Н.И.ВАВИЛОВА»**  
**(ГНУ ГНЦ РФ ВИР)**

---

**В. Г. КОНАРЕВ**

**МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ**  
**ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕНОФОНДА**  
**КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ В ВИРе**  
**(1967 – 2007 гг.)**

**САНКТ-ПЕТЕРБУРГ**  
**2007**

**Конарев В. Г.** Молекулярно-биологические исследования генофонда культурных растений в ВИРе (1967–2007 гг.).  
Издание 2-е дополненное (составители: Сидорова В. В., Конарев А. В.).  
СПб.: ВИР, 2007. 134 с.

На фоне развития института и общей ситуации в биологической и сельскохозяйственной науке рассмотрено формирование научных направлений в молекулярно-биологическом изучении генофонда культурных растений. Показаны основные достижения отдела молекулярной биологии в этих направлениях. Особое внимание уделено разработке принципов и методов белковых маркеров, использованию их в решении фундаментальных проблем прикладной ботаники, генетики и осуществлению многих практических мероприятий в области селекции и семеноводства.

Для биохимиков, генетиков, ботаников-ресурсоведов, селекционеров и семеноводов.

# I. МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕНОФОНДА КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ (В СВЯЗИ С ТРИДЦАТИЛЕТИЕМ ОТДЕЛА МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ ВИР)

*Несколько слов о ВИРе.* Наш Институт возник на базе Бюро по прикладной ботанике. Его руководитель Р. Э. Регель в 1908 году организовал издание “Трудов Бюро прикладной ботаники”. Сменивший Регеля Николай Иванович Вавилов в 1920м году продолжил это издание, но уже под названием “Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции”, определив этим содержание деятельности созданного им затем Всесоюзного Института растениеводства.

С тех пор на фронте Института как эмблема незримо написана триада наук – *прикладная ботаника, генетика и селекция*, на основе которой Н. И. Вавилов и его последователи разрабатывали учение об исходном материале и создавали гармоничную стратегию развития Института на многие десятилетия.

Гений создателя и большая поддержка от правительства (сбор растительных ресурсов рассматривался тогда, как важнейшая государственная задача) обеспечили ВИРу стремительное восхождение. За короткий срок он стал крупнейшим и уникальным научным учреждением, первым в мире генным банком селекции.

Скоро в ряде отделов растительных ресурсов возникли современные биологические лаборатории, во главе которых стали крупные ученые.

По мобилизации и изучению ресурсов селекции в 30-х годах ВИР уже стоял “на глобусе” – немного мест земного шара оставалось вне сферы деятельности его экспедиций. К тому времени передовые позиции на всех главных направлениях прикладной ботаники, генетики и селекции фактически занимали Николай Иванович и его соратники.

Трагедия постигла этот хорошо задуманный и продуктивно работавший Институт в годы репрессий, лысенковщины и военной блокады города, когда были потеряны лучшие научные силы, как и его создатель, и надолго подавлена уже сложившаяся к тому времени вавиловская методология в растениеводстве страны. И только героическими усилиями сотрудников Института и некоторых его руководителей – академиков ВАСХНИЛ Иоганна Гансовича Эйхвельда, Петра Михайловича Жуковского и Дмитрия Даниловича Брежнева – ВИР в основе своей был сохранен, а затем и возрожден как мощное научное

учреждение, способное решать важные для страны и мира проблемы растительных ресурсов для селекции.

В послевоенное (особенно в послелысенковское) время – 60-70-х годах – произошло значительное укрепление Института научными кадрами, возобновилась напряженная и плодотворная работа по мобилизации мирового генофонда сельскохозяйственных растений. В это время с ботаниками-ресурсоведами, как и в годы Н. И. Вавилова, работают “биологи-методисты”, обеспечивающие всестороннее комплексное изучение мировой коллекции и поиск ценных источников для селекции; организуются отвечающие духу времени новые лаборатории.

Для более полного раскрытия потенциала сортов и видов, о чем мечтал Н. И. Вавилов, создаются и новые научные направления, основанные на достижениях биологии последних десятилетий и, прежде всего молекулярной биологии, призванной вывести медицину и сельское хозяйство на новый технический уровень.

Здесь я хочу особо подчеркнуть, что биологическим, особенно физиологическим, биохимическим и технологическим работам Н. И. Вавилов придавал исключительно большое значение. Поражает прозорливость его в оценке значимости этих наук в изучении генофонда. Например, он считал, что “...задачей ближайшего будущего является классификация огромного сортового разнообразия важнейших культур не только на основе ботанико-агронOMICеских характеристик, но и с использованием методов физиологии, биохимии и технологии. Ближайшему будущему надлежит разработать учение о биохимической и физиологической систематике культурных растений”. Вавилов был великий биолог и генетик широкого плана.

Для реализации этих идей в Институте им были созданы соответствующие лаборатории, в задачу которых входила разработка сортовой биохимии, сортовой физиологии и сортовой технологии.

Особо хотелось бы отметить работы отдела биохимии того времени. Ее возглавлял Иванов Николай Николаевич – один из соратников Вавилова, основоположник биохимии культурных растений. Под его руководством впервые в мире, фундаментально и в разных аспектах – сортовом, агрономическом, почвенно-климатическом и географическом, – была изучена изменчивость важнейших сельскохозяйственных растений по многим биохимическим показателям. Результаты этих работ были опубликованы в многотомном издании “Биохимия культурных растений”, где по каждой культуре были показаны закономерности и пределы

изменчивости биохимических признаков и намечены пути их селекционного улучшения.

Большое место в работе Н. Н. Иванова занимала проблема белка в растениеводстве, в числе аспектов которой было стремление привлечь белки к “тонкому различению сортов” и созданию новой систематики.

Большой интерес к проблеме белка в растениеводстве проявлял и Н. И. Вавилов. В напутствиях мне, только что сдавшему вступительный экзамен в аспирантуру по биохимии, он выразил пожелание – разобраться в белках зерновки злаков и выяснить, например, чем отличаются белки твердой (макаронной) пшеницы от белков мягкой (хлебопекарной) и нельзя ли по ним различать эти два вида.

Это было в 1938 г. Прошли годы, прежде чем удалось приступить к реализации этих идей.

Были тяжелые месяцы блокады, фронтовые годы, затем – зарождение и становление современной молекулярной биологии, принципы и методы которой позволили уже вплотную подойти к белкам не только как к ингредиентам питания, но и как к факторам и основе морфогенеза растений. Складывались новые принципы и подходы к изучению жизненных процессов, создавались более совершенные методы и техника исследований, вырисовывалась картина молекулярных механизмов генетических и морфогенетических процессов в организме. Становилась все очевиднее выдающаяся роль белков и нуклеиновых кислот в этих процессах. Как теперь известно, с ними связаны все кардинальные свойства и функции организма: белки – основа метаболизма и формообразования, нуклеиновые кислоты – молекулярная основа генетических функций. При этом еще в 1950-х годах мы показали, что заключенная в них наследственная информация реализуется в морфогенезе не непосредственно, а исключительно через белки (В. Г. Конарев *«Нуклеиновые кислоты и морфогенез растений»*, 1959. Изд. «Высшая школа»).

Уже в то время начинали складываться некоторые представления о сущности и принципах организации некоторых метаболических, генетических и морфогенетических процессов в организме.

Все это и позволило нам считать белки и нуклеиновые кислоты самыми эффективными критериями в оценке генетической конституции организма и генетическом анализе растений при решении различных проблем прикладной ботаники, генетики и селекции. Смелость для практической реализации этой идеи мне придала сложившаяся на моем

научном пути тематическая последовательность в исследовательской и преподавательской деятельности: чтение вузовских курсов и экспериментальные работы по анатомии, морфологии, физиологии и биохимии растений в 1947-1956 гг. и по молекулярной биологии с 1953 года.

Основные идеи молекулярно-биологического изучения генетических ресурсов культурных растений и их диких сородичей были изложены в 1967 году на Объединенной сессии АН СССР и ВАСХНИЛ, посвященной 80-летию со дня рождения Н. И. Вавилова, в докладе “Н. И. Вавилов и проблемы биохимической генетики растений” (Конарев, 1969). Они были взяты за основу при разработке принципов и методов молекулярно-биологического анализа для решения различных вопросов прикладной ботаники, генетики и селекции.

*Выбор научного направления.* Началу наших работ в ВИРе предшествовали исследования в области биологии нуклеиновых кислот с использованием методов биохимии и цитохимии с применением электронной микроскопии. Это сказалось на выборе научного направления: в первые годы нашу группу мы назвали лабораторией цитобиохимии, которая вскоре, в ходе уточнения тематики и конкретизации задач, стала лабораторией белка и нуклеиновых кислот, а затем отделом молекулярной биологии, включающим лабораторию иммунохимии с виварием и лабораторию белка и нуклеиновых кислот с группами нуклеиновых кислот, электрофоретического анализа белков, белкового и аминокислотного анализа и электронной микроскопии. Иммунохимию возглавила И. П. Гаврилюк, группу нуклеиновых кислот – С. Л. Тютюрев и группу белкового и аминокислотного анализа – З. В. Чмелева.

Вскоре подросли молодые специалисты, приступившие к работам по сортовому и видовому анализу генофонда культурных растений и их диких сородичей методами белковых маркеров. За сравнительно короткое время осуществил фундаментальные исследования структурных и функциональных изменений в хромосомах пшеницы М. А. Блюденев.

Лаборатория приступила к работам с первого же года ее организации, т.е. в 1967 году. Первыми объектами исследований были пшеница, кукуруза, бобовые и картофель. Соответственно глубокий и неизменный впоследствии интерес к нашим подходам в анализе генофонда проявили прежде всего коренные “виновцы” – М. М. Якубцинер, В. Ф. Дорофеев, Э. Ф. Мигушова, М. И. Хаджинов, Г. С. Галеев, Н.Р. Иванов, С.

М. Букасов, Н. Г. Хорошайлов и многие другие. Они с большим энтузиазмом восприняли наши работы и всячески способствовали нашему вхождению в проблемы мирового генофонда культурных растений и их диких сородичей.

Главными задачами лабораторий с момента их организации были внедрение принципов и методов современной биологии в растениеводство, разработка молекулярно-генетических подходов к изучению мировых ресурсов культурных растений и их диких сородичей как исходного материала для селекции. С того времени сложились три основных направления.

1. Изучение структурной и функциональной организации генома клеточного ядра растений.

2. Ресурсы растительного белка и проблемы его качества.

3. Разработка принципов и методов белковых маркеров для геномного и генетического анализа растений на основе биологической специфичности белка.

*В изучении генома* были использованы методы биохимии, цитохимии, иммунохимии и люминесцентной микроскопии. Исследования проводились совместно с Отделом биохимии и цитохимии БашФАН СССР (Уфа). Были выяснены основные черты молекулярной организации хромосом и предложена модель, которая открывает новые возможности в изучении механизмов генетической регуляции клетки; разработаны принципы биохимической и цитохимической (спектральной, микроскопической, люминесцентной) оценки функциональной активности генома по структурному состоянию ДНК и хромосом. Доказана серологическая специфичность гистонов – основных белков хромосом. На этой основе был осуществлен геномный анализ естественных и синтетических амфидиплоидов, иммунохимический анализ состава и структурного состояния белков в хромосомах, что позволило приступить к разработке тонких методов генетического и филогенетического анализа растений по белкам клеточного ядра. Методы были использованы главным образом в исследованиях молекулярно-генетической природы гетерозиса и механизмов действия физиологически активных веществ на растение. Работы проводились совместно с Отделом биохимии и цитохимии БашФАН СССР, результаты которых опубликованы в ряде статей и книгах: *“Методы биохимии и цитохимии нуклеиновых кислот растений”* (Конарев, Тютюрев, 1970), *“Физиологические и биохимические аспекты гетерозиса и гомеостаза растений”* (под ред. Конарева и

Ахметова, 1976), “Электронномикроскопическая цитохимия” (под ред. Конарева, 1971), “Вопросы биохимии гетерозиса у растений” (под ред. Конарева, 1971; докладывались на Всесоюзных симпозиумах “Клеточное ядро и его ультраструктуры” и Всесоюзных биохимических съездах.

*О ресурсах растительного белка и проблемах его качества.* Основное содержание работ в этом направлении – оценка генофонда культурных растений и их сородичей на содержание и качество белка в урожае, природа и генезис клейковинного комплекса хлебных злаков, молекулярно-генетические основы формирования хлебопекарных свойств и других показателей качества урожая. Исследования по этим проблемам проведены в сравнительном плане на основе всего таксономического разнообразия культур, что позволило составить представление о биохимической, генетической и морфогенетической сущности сложных и количественных признаков качества и разработать молекулярно-генетические подходы к оценке исходного и селекционного материала на генетическую обеспеченность этих признаков у растений.

Особое внимание здесь уделялось молекулярной организации клейковинного комплекса и его генезису у хлебных злаков.

*В основном, однако, исследования отдела велись в плане молекулярно-биологического анализа мирового генофонда на основе принципов и методов белковых маркеров.* Поскольку с этим направлением связаны основные достижения отдела, подробнее остановлюсь на сущности молекулярного маркирования и достоинствах белков в молекулярно-биологическом анализе растений.

Главными достоинствами молекулярных маркеров, в сравнении с морфологическими, обычными биохимическими и др., являются *генотипичность, неопосредованность плейотропией и кодоминантность в наследовании*, т.е. наличие у них главных атрибутов идеального генетического маркера. Они представляют собой биологические молекулы, способные, будучи изолированными, сохранять одно из важнейших элементарных свойств живого организма – *биологическую специфичность*. Последняя проявляется в категориях таких явлений и свойств живой субстанции, как *структурные соответствия, комплементарность и биологическое узнавание*.

Биологическая специфичность по структурному соответствию оценивается физико-химическими методами, чаще всего электрофорезом в геле по подвижности биомолекул или их фрагментов. В случае оценки подобия белков главную роль в разделении компонентов играют заряд,



структура и размер молекул, в оценке подобия фрагментов ДНК в рестрикционном анализе – только размер (длина) рестрикта, поскольку заряд и структура молекулы ДНК на всем ее протяжении примерно одинаковы. Специфичность ДНК в целом или в ее отдельных областях генома оценивается по полиморфизму длины рестриктов, на чем основан метод ПДРФ-маркеров.

На свойствах узнавания между молекулами основаны этапы матричного синтеза биологических молекул, взаимодействие фермента и субстрата, антигена и антитела, “самосборка” из субъединиц надмолекулярных биоструктур и сложных ансамблей, включающих, кроме белков, также липиды, углеводы и другие вещества. Принцип узнавания действует и на более высоких уровнях организации – в отношениях между ядром и цитоплазмой, в адгезиях клеток, в репродуктивной и морфогенетической совместимости видов и т.д.

Феномен биологического узнавания в генетических и филогенетических исследованиях растений мы реализовали в разных вариантах метода иммунохимии белков, основанного на использовании высокоспецифичной иммунологической реакции антиген – антитело. В подобных работах с нуклеиновыми кислотами комплементарность и узнавание, как известно, реализуются главным образом в разных приемах молекулярной гибридизации по типу ДНК-ДНК или ДНК-РНК с определением степени подобия, или гомологии, по количеству образовавшихся гибридных молекул. Молекулярная гибридизация нуклеиновых кислот лежит в основе применения “проб”, или “зондов”, – молекул ДНК или РНК с известной нуклеотидной последовательностью, – для идентификации рестриктов геномной ДНК после разделения их электрофорезом.

*Литературные сведения и обширный экспериментальный материал, полученный отделом за прошедшие годы, позволяют провести сравнительный анализ сущности и возможностей методов молекулярного маркирования, положенных в основу наших работ.*

При сопоставлении существующих методов маркирования в генетическом анализе обычно берут такие характеристики, как полиморфизм маркера, его молекулярная основа, стабильность наследования (генотипичность), число маркируемых локусов, возможности и техническая сложность, быстрота, доступность и экономичность. При этом в основном рассматриваются четыре типа маркеров: ферменты, запасные белки семян и ДНК-маркеров (ПДРФ- и ПЦР-технологии).

Некоторые авторы к молекулярным относят только ДНК-маркеры. Методологически это неверно. В маркировании биологических и генетических систем ферменты, запасные белки, белковые ингибиторы и др. используются не как простые биохимические соединения, а как структурно и функционально специфичные биологические молекулы, обладающие свойствами биологического узнавания, способностью к специфическому избирательному комплексованию и биологической интеграции.

Как уже отмечалось, главные атрибуты молекулярных маркеров – генотипичность, непосредственность плейотропией и кодоминантность в наследовании. Эти свойства в равной мере присущи белкам и ДНК. Особенно отчетливо они выражены у кодирующей части ДНК, в ее генных локусах, которые в главном потоке генетической информации (ДНК – РНК – Белки – Морфогенез) служат ее первичным источником. Некодирующая часть ДНК играет вспомогательную – регуляторную, стабилизирующую и т.д. – роль, и ее маркерные свойства обусловлены главным образом специфичностью структурной организации, выраженной в нуклеотидных последовательностях и характере размещения повторов.

Кодирующие локусы генома через белки дают прямую информацию о признаках и могут быть их непосредственными, или прямыми, маркерами; не кодирующие – лишь косвенными – через кодирующие локусы или общую структуру генома; до выяснения функций в геноме маркерное значение их устанавливается эмпирически.

Молекулярно-генетическое маркирование, основанное на использовании ДНК, получило бурное развитие, особенно за последнее десятилетие. Два главных его метода – ПДРФ и ПЦР – описаны в ряде публикаций (Конарев, 1997). Кроме общих для молекулярных маркеров атрибутов преимущество ДНК-маркеров состоит в том, что для маркирования может быть использована ДНК любого органа и на любой стадии развития. В клетке ДНК собрана в обособленные структуры, – представлена центральным геномом, локализованным в ядре, и вспомогательными геномами митохондрий и пластид. В этих геномах ДНК выступает как бы в роли центров генетической информации на все совершающиеся в клетке метаболические и формообразовательные процессы. Для маркерной роли она как бы создана природой специально. Нуклеиновые кислоты и особенно ДНК выделяются среди других биологических субстанций исключительно высокой способностью к избирательным, специфическим взаимодействиям, основанным на

свойствах молекул узнавать комплементарные структуры; в живых системах эти свойства выступают как функции биологического узнавания. Они лежат в основе матричного синтеза нуклеиновых кислот и всех молекулярно-генетических процессов, связанных с воспроизведением генетического материала и передачей генетической информации на синтез белка.

Некоторые исследователи отдают предпочтение ДНК-маркерам еще и на том основании, что белковые признаки отражают у высших организмов лишь небольшую часть генома, примерно 5-10%, что соответствует количеству ДНК структурных генов, непосредственно кодирующих белки (Айала, 1986). Как уже отмечалось, остальная часть геномной ДНК, т.е. 90-95%, выполняет регуляторную и вспомогательную роль.

Здесь, однако, необходимо отметить следующее: белки маркируют наиболее существенные локусы, составляющие эти 5-10% генома. К тому же “служебные”, некодирующие, области ДНК в функциональном отношении изучены еще очень слабо. Но то, что мы знаем о них, уже свидетельствует о направленности их участия на обеспечение генетической и биологической специфичности организма через синтез белков. Другими словами, как ингредиенты генома, представляющего собой генетическую систему видовой категории, некодирующие области, безусловно, в роли регуляторов и кофакторов непременно участвуют в видоспецифичном синтезе белков и формировании соответствующих родовых, видовых, сортовых и других белковых признаков.

Поскольку генетическая информация, заключенная в геноме, реализуется в метаболизме и морфогенезе только через белки, приоритет за ними как генетическими и филогенетическими маркерами, надо полагать, сохранится и тогда, когда будут разгаданы все функции генома и геномной ДНК.

Пока что преимущества ДНК-маркеров типа ПДРФ и ПЦР по разрешающей способности различать генотипы обусловлены подбором проб, или зондов, для выявления нужных рестриктов, или фрагментов геномной ДНК, в электрофоретическом спектре на агарозном геле. Такими пробами чаще оказываются некодирующие и даже случайные, иногда анонимные ДНК-последовательности, благодаря чему анализ сорта на генотипный состав или оценка на полиморфизм оказываются в той или иной мере обезличенными, “анонимными”, и по своему значению соответствуют простым меткам, или “отпечаткам пальцев”. Естественно,

результаты рассматриваемых методов приобретают определенный смысл и конкретное содержание, когда пробой служит ДНК-последовательность, соответствующая конкретному генетическому локусу или некодирующей последовательности генома, генетическая или иная функция которой известна. Соответственно, значимость ПДФ- и ПЦР-маркеров, основанных на использовании геномной ДНК, в генетическом и биологическом анализе растений будет возрастать по мере выяснения функциональной природы кодирующих и некодирующих локусов генома и совершенствования техники выделения соответствующих им фрагментов ДНК. Успехам в этом направлении будут способствовать работы по картированию генома и использование в качестве зондов строго определенных и методически наиболее удобных генных (возможно, и других смысловых) локусов. Это позволит подойти к стандартизации методов идентификации сортов, биотипов и генетических линий для создания единой системы регистрации генофонда сельскохозяйственных растений.

*О сущности и возможностях белковых маркеров.* Белки как первичные продукты кодирующих локусов геномной ДНК по маркерным возможностям фактически им не уступают, а по информативности даже превосходят.

Уже сравнительно давно, на заре становления молекулярной биологии, Б. Коммонер (Commoner, 1962-1968) выразил сомнение относительно жесткости в понимании односторонней передачи информации (биохимической специфичности) от ДНК через РНК белкам. Современные представления о взаимосвязи между генетическими, метаболическими и морфогенетическими процессами в организме и основополагающем значении в них белков дают основание утверждать, что последние теми или иными путями, например в качестве ферментов или их кофакторов, через метаболизм и морфогенез в конкретных условиях среды непременно вносят определенный вклад в развитие генетических систем, вызывая соответствующие сдвиги в структуре и генетических функциях геномной ДНК. Эти сдвиги зарождаются в белках в ходе их биосинтеза; они редки, но возможны, например во время транскрипции и трансляции, при сплайсинге и разнообразных посттрансляционных модификациях, имеющих место вплоть до мембранного транспорта и включения белковых молекул в биоструктуры.

Естественно, далеко не все возникающие при этом отклонения в структуре и функциях белка реализуются в сдвигах генома, а

кардинальной изменчивости в нем скорее следует ожидать от изменений общей ситуации в метаболизме и морфогенезе, вызываемых сдвигами в белках.

Поскольку все названные выше этапы белкового синтеза генетически детерминированы, то “зрелая” молекула белка, вобравшая на пути своего становления дополнительную информацию, морфогенетически, т.е. структурно и функционально, оказывается, как правило, богаче, чем даже это мог бы обеспечить лишь кодирующий ее генетический локус генома.

Преимущество белковых маркеров состоит также в том, что сами они являются носителями тех или иных функций в метаболизме или морфогенезе и часто наряду с генами или локусами генома могут быть факторами идентификации этих функций. В большей мере это касается ферментов, функциональная специфичность у которых может быть особенно высокой. Их органная специфичность, динамичность в онтогенезе и значительная изменчивость по степени активности (редко по характеру или типу катализируемой реакции) в меняющихся условиях среды обитания организма требуют тщательного соблюдения правил взятия проб для анализа с учетом тканевой и органной принадлежности, а также фаз развития растения. Главные преимущества ферментов-маркеров – легкость их идентификации и простота трактовки результатов ферментного анализа.

По характеру генетического полиморфизма ферменты чрезвычайно разнообразны: среди них можно встретить как мономорфные – одиночные или множественные по числу электрофоретических компонентов, свойственных всем представителям какого либо вида, так и очень полиморфные, отражающие многоаллельность гена. При этом степень полиморфизма многих ферментов может меняться от вида к виду: мономорфные или низкополиморфные ферменты у одних видов растений могут оказаться полиморфными у других.

Оценка на полиморфизм перед началом генетического или филогенетического анализа по белковым маркерам необходима и по другим белкам.

Одним из критериев маркера является число маркируемых им локусов генома. Условно можно считать, что мономерные ферменты, представленные одной молекулой белка, точнее, одним полипептидом, маркируют один генетический локус, димерные ферменты, состоящие из двух разнокачественных полипептидов, маркируют два локуса; мультиферменты – многолокусны.

Ферменты как белковые маркеры могут быть использованы и как серологические маркеры для филогенетического анализа и выявления интрогрессий, и как электрофоретические маркеры для раскрытия внутривидовой дифференциации, сортовой идентификации и анализа популяций. Совокупность сведений о маркировании генома и других генетических систем по ферментам может дать конкретное представление о принципиальных основах организации этих систем в организме и ключ к расшифровке сущности практически всех генетически сложных биологических свойств и хозяйственных признаков растения, тем более, что ферменты наряду с генетическим маркированием сами по себе могут служить факторами идентификации тех или иных признаков. Без ферментов в организме не обходится ни одна биохимическая реакция, ни один метаболический процесс. На генетической карте генома они занимают значительную часть его кодирующих областей.

Совершенно очевидно, что ферменты со всей совокупностью изоферментных систем и их белковых кофакторов представляют собой в молекулярной биологии важнейшую область биологического и генетического маркирования организма с большим числом его теоретических и практических аспектов для многостороннего использования.

Среди белковых маркеров у растений особое положение занимают запасные белки семян – проламины злаков и глобулины двудольных. Они высокополиморфны, хотя имеются и хорошо выраженные мономорфные компоненты, удобные для филогенетического анализа. Сфера их маркирования ограничена двумя-четырьмя хромосомами, включающими несколько десятков генетических локусов генома. У злаков наиболее многочисленны и полиморфны неагрегированные спирторастворимые проламины - глиадины, секалины, гордеины, которые дают возможность, однако, с достаточной полнотой идентифицировать существующий генофонд сортов зерновых злаков, различать и регистрировать их биотипы, инбредные линии и с большой детализацией анализировать сортовые, гибридные и естественные популяции.

Семена содержат также ферменты, их ингибиторы и многочисленные ядерные и цитоплазматические конституционные белки, усиливающие и расширяющие маркерные возможности запасных белков. В кодировании всей совокупности белков семян, доступных иммунохимическому или электрофоретическому анализу, участвуют все хромосомы генома. Соответственно, белки семян как генетические и филогенетические

маркеры охватывают подавляющую часть генома и особенно те его области, которые детерминируют продуктивность растений по зерну и определяют качество урожая, включая такие главные хозяйственные признаки, как масличность или белковистость зерна, выход и свойства клейковины, хлебопекарные качества муки, а также другие питательные или кормовые достоинства урожая.

Главные достоинства запасных белков семян как маркеров состоят в следующем.

1. Они содержатся в семени или зерне в большом количестве, локализованы в морфогенетически однородной ткани (семядолях или эндосперме), легко доступны выделению и последующим иммунохимическим или электрофоретическим анализам, интерпретация результатов которых проста и конкретна.

2. Белки зрелых семян представляют собой как бы строго фиксированную фазу их динамики в онтогенезе; морфогенетически они однородны.

3. Другие белки семени, находясь в той же фазе функционального состояния, могут быть использованы как дополнительные или вспомогательные маркеры в тех случаях, когда разрешающая способность запасных белков окажется недостаточной. Такими белками могут быть ферменты, их белковые ингибиторы и высокомолекулярные агрегированные проламины, т.е. субъединицы глютеина зерновки злаков. Учитывая повсеместно действующий фактор, или феномен “функционального сцепления” генов и генетических систем, можно считать, что белки семени в совокупности могут обеспечить довольно полное маркирование локусов, ответственных за генетическую и филогенетическую изменчивость не только в сфере семян, но и всего растения.

4. Семена – самый доступный и удобный источник белковых маркеров и очень важный объект для решения методами белковых маркеров различных задач частной генетики, селекции, сортоиспытания, семеноводства и семенного контроля сельскохозяйственных растений, чем мы были заняты на протяжении последних трех десятилетий. За это время мы убедились, что белки семян в не меньшей, а иногда и в большей мере эффективны и полезны, чем другие молекулярные маркеры для биологического анализа растений при решении таких проблем, как идентификация вида и генома, геномный анализ, выяснение путей происхождения культурных растений и степени родства их с дикими

сородичами, аллополиплоидия как один из способов видообразования и морфогенеза у растений, молекулярно-биологическая сущность и генезис такого генетически и морфогенетически сложного признака, как хлебопекарные свойства муки пшеницы и родственных ей злаков.

Опыт многих лабораторий подтвердил, что белки семян как генетические маркеры не только весьма эффективны в решении перечисленных выше практических задач и фундаментальных проблем растениеводства, но также удобны в методическом отношении и не требуют больших затрат (Белковые маркеры в сортовой идентификации, 1987; Bioch. ident. of varieties, 1988).

Хотелось бы особо подчеркнуть, что на белках семян фактически впервые были разработаны главные принципы молекулярно-генетического маркирования растений для решения актуальных проблем прикладной ботаники, генетики и селекции. Они первыми вошли в методологию селекции и семеноводства, были стимулом, а в ряде случаев и основой для развития новой молекулярно-генетической технологии маркирования, основанной на ДНК (Конарев, 1980, 1983; Конарев, Гаврилюк, Губарева, 1970; Konarev et al., 1979). Белки семян как генетические маркеры особенно полезны и необходимы генбанкам для изучения, систематизации и документации ресурсов культурных растений и их диких сородичей. К настоящему времени в ВИРе зарегистрирован основной генофонд важнейших сельскохозяйственных культур.

Изложенное выше в значительной мере можно перенести на белки клубней картофеля, поскольку к концу вегетации они морфогенетически выровнены и подобно белкам семян хорошо отражают видовую принадлежность и генотип растения (Букасов, Григорьева, Гаврилюк, Конарев, 1969; Григорьева, Букасов, 1973; Stegemann, 1970, 1983; Lester, 1965).

*Сказанное о свойствах и возможностях белковых маркеров можно суммировать следующим образом:*

– как первичные продукты генетических систем белки маркируют структурные гены непосредственно, в то же время они маркируют тандемно и функционально связанные с ними гены и генетические системы;

– в силу биологической специфичности белки отражают принадлежность растения виду, роду и т.д. и соответственно являются “филогенетическими маркерами”, а в силу функциональной



специфичности они могут быть “метаболическими” или “морфогенетическими маркерами”;

– белки позволяют идентифицировать геном как генетическую систему видовой категории, поэтому могут быть “маркерами генома”;

– белки дают возможность выявлять (выделять, различать) три основные категории наследственной изменчивости растений: аллельную, генную и геномную;

– в силу зависимости кодирующего гена от “генетической среды” и возможности других сдвигов в генотипе, например при сплайсинге, вторичных (посттрансляционных) модификациях и т.д., белковый маркер несет более богатую генетическую информацию, чем кодирующий его ген;

– в главном потоке генетической информации белок – начало и основа метаболизма и морфогенеза, поэтому он является самым надежным критерием в оценке функционального значения его маркирующего гена.

Больших преимуществ следует ожидать от сочетания методов ДНК-маркеров с принципами и методами белковых маркеров.

Перечисленные выше свойства и возможности белков как факторов идентификации генетических систем и молекулярно-биологического анализа растений позволили нам решать, можно сказать, важнейшие проблемы прикладной ботаники, генетики и селекции.

Были разработаны методы идентификации генома как генетической системы видовой категории по видоспецифичным белкам-антигенам и генетически мономорфным электрофоретическим компонентам множественных (кодируемых множественными генами) белков. Это дало возможность осуществить геномный анализ практически всех основных видов и родов сельскохозяйственных растений, что в свою очередь позволило установить происхождение наиболее важных культур и их родство с дикими сородичами; это особенно важно для подбора исходного материала при отдаленной гибридизации. Геномный анализ по белкам-маркерам открыл принципиально новые возможности в оценке генетической конституции аллополиплоидов и осуществлении аллополиплоидной и интрогрессивной селекции.

В ряду других разработок, связанных с геномным анализом растений, следует отметить исследования молекулярных механизмов преобразования генома в процессах видообразования, эволюции и функционирования в онтогенезе. Это был большой цикл работ, опубликованных в ряде изданий. Они были выполнены с применением

иммунохимических, электронномикроскопических, электрофоретических и других молекулярно-биологических методов.

Значительное место в исследованиях отдела занимали методы электрофоретического анализа генетически полиморфных белков разного класса и особенно запасных белков семян. Эти методы дали возможность выявлять внутривидовую дифференциацию растений и раскрывать генетический потенциал вида, популяций и сортов, анализировать гибридные популяции в первом поколении и регистрировать, документировать генофонд любой культуры или ее сородичей в виде белковых формул сортов, биотипов, инбредных линий и популяций. К настоящему времени в виде белковых формул зарегистрирован основной генофонд многих культур и родственных им растений дикой флоры.

В сочетании с другими методами биохимического и молекулярно-биологического анализа электрофорез белков сыграл большую роль в разработке таких проблем как аллополиплоидия, гетерозис и сложные признаки растений. Особенно большую роль разные варианты этого метода сыграли в решении практических задач растениеводства. Как оказалось, многие задачи генетики и проблемы селекции могут быть успешно решены только с привлечением белковых маркеров. Так, например, только по электрофоретическим спектрам полиморфных белков возможен анализ морфологически однородных популяций. Только белковые маркеры позволяют исключать гетерозиготные растения на первых этапах семеноводства и сохранять характерные для сорта соотношения морфологически неразличимых генотипов в популяциях, что особенно важно при ускоренном способе выращивания элиты для быстрого внедрения в производство новых районированных и дефицитных сортов.

Пока только по белковым маркерам возможна прямая оценка семян на гибридность  $F_1$  в семеноводстве гетерозисных гибридов, полностью заменяющая дорогостоящий, трудоемкий и малоэффективный грунт-контроль.

В настоящее время складываются технологии выделения биотипов из сортов самоопыляющихся культур и получения инбредных линий из сортовых популяций перекрестников на основе электрофоретического анализа маркерных белков единичных зерновок с сохранением их жизнеспособности. Как элемент селекционного процесса эта технология должна занять достойное место в ряду современных вспомогательных средств селекции. Ее преимущества, например, перед клеточной селекцией

или методами дигиплоидов в получении инбредных линий, состоят прежде всего в том, что, во-первых, селекционер здесь работает с нормальными, естественными, стабильными (неповрежденными) генетическими системами, во-вторых, он имеет возможность контролировать селекционный процесс и использовать в селекции весь генофонд сорта, популяции или вида в целом.

Методы белковых маркеров могут быть использованы (и уже используются) в сочетании с любыми методами селекции и на всех этапах селекционного процесса – от изучения исходного материала и поиска источников до сортоиспытания и семеноводства созданных сортов, а именно (Конарев и др., 1986):

в изучении исходного материала: филогенетический анализ, идентификация генома, оценка геномного состава полиплоидных видов, идентификация сортов, биотипов и линий, регистрация генетических ресурсов селекции, анализ морфологически однородных естественных и сортовых популяций, создание вспомогательных систем селекции, поиск источников ценных признаков;

в селекции: отбор ценных генотипов по белковому фенотипу, анализ гибридных популяций, контроль за включением желаемых генетических систем (геномов, хромосом и их локусов) в создаваемые сорта, гибриды и аллоплоиды, получение многолинейных сортов-популяций и сортов-синтетиков, подбор родительских форм и видов-посредников при отдаленной гибридизации, контроль полноты насыщающих скрещиваний;

в сортоиспытании: определение происхождения и оригинальности сорта, оценка на генетическую однородность и константность, оценка состава сортовых популяций у перекрестников и биотипного состава сортов самоопылителей, регистрация и документация районированных сортов в виде “белковых формул”;

в семеноводстве и семенном контроле: проверка типичности при отборе лучших растений в первичном семеноводстве, выяснение природы нетипичных растений для подготовки рекомендаций апробаторам, тест на наличие спонтанного переопыления и механического засорения, контроль за составом популяций при улучшающем семеноводстве перекрестников, маркирование линий в семеноводстве гибридных семян и оценка последних на уровень гибридности; быстрое серологическое и электрофоретическое обнаружение засоренности зерна твердой пшеницы зерном мягкой, различение фатуоидов и овсюга,

определение подлинности и чистоты трудноразличимых по морфологическим признакам семян бобовых и крестоцветных;

в клеточной и хромосомной инженерии: маркирование клеточных линий и очагов дифференциации каллуса, хромосомных преобразований и идентификация генетического материала в соматических гибридах;

в генной инженерии: поиск в геноме локусов и генетических систем, кодирующих биологические свойства и хозяйственные признаки растения, оценка генной функции выделенных фрагментов ДНК генома или плазмона.

Методы белковых маркеров органически сливаются со многими методами генетики и селекции и оказывают все большее влияние на формирование современной методологии этих наук. Усилия биохимиков, генетиков и растениеводов, работающих в данной области, должны быть направлены, прежде всего на реализацию раскрывшихся возможностей белковых маркеров в решении практических задач селекции и семеноводства. В то же время особое внимание должно быть уделено использованию принципов и методов белковых маркеров в разработке таких фундаментальных направлений прикладной ботаники и генетики, как проблема вида, генома и сохранения генофонда культурных растений и их диких сородичей для селекции. Как уже было показано нами на многих примерах использования белковых маркеров, они позволяют идентифицировать и в удобной для компьютеризации форме регистрировать и документировать как генетические системы – гены, их аллельную структуру, генные комплексы, хромосомы и геномы, так и таксономические и биологические единицы – линии, биотипы, сорта, популяции и виды.

*Организация и методическая работа отдела.* Развитию исследований в отделе способствовал общий настрой коллектива, который был сформирован довольно быстро и оказался целеустремленным, дружным, с высоким чувством ответственности и доброжелательным к другим лабораториям, что способствовало его стабильности в “стрессовых ситуациях” и широкому комплексированию исследований.

Работы по молекулярной биологии требуют соответствующего оборудования и технического обеспечения высокого класса. Отдел формировался “на пустом месте”. Помогли активность, умение, глубокий интерес к науке и большие организационные способности старших научных сотрудников – И. П. Гаврилюк, С. Л. Тютерева, З. В. Чмелевой и

их помощников: в короткий срок они сумели выделенные нам обычные комнаты превратить в лабораторные и создать вполне современную для того времени материально-техническую базу для исследований. Были организованы изотопная и электронномикроскопическая лаборатории, созданы парки необходимых центрифуг и аминокислотных анализаторов, лаборатории электрофоретического анализа белков по культурам и виварий для иммунохимических исследований. Вскоре в пределах отдела была создана структурная лаборатория иммунохимии, которую возглавила И. П. Гаврилюк. Здесь была разработана серия методов иммунохимического анализа белков клубней картофеля и семян практически всех культур. В сочетании с методами электрофореза эти методы дали возможность решить ряд рассмотренных выше важных проблем фундаментального и прикладного значения.

С. Л. Тютюрев и Р. Ф. Махлаева фактически поставили современные для 60 – 70-х годов методы исследования нуклеиновых кислот растений и осуществили ряд работ по структурной и функциональной организации генома растений в связи с проблемами морфогенеза.

З. В. Чмелева возглавила обширную работу по оценке генофонда мировой коллекции культурных растений и их диких сородичей как исходного материала для селекции на содержание и качество белка. О масштабе этих работ свидетельствуют каталоги мировой коллекции, изданные за истекшие 30 лет: они охватывают 26 культур с характеристикой их сортов и форм по белку.

Указанные исследовательские группы имели опытных высококвалифицированных лаборантов, в числе которых Г. И. Тимофеева, Н. М. Мартыненко, Л. Е. Щипкова, Н. Е. Павлова, А. Е. Малофеева и др. На протяжении многих лет наши рукописи печатала грамотная и аккуратная машинистка Т.С. Самохина.

Бесперебойную работу названного выше оборудования обеспечивали старшие инженеры М. Н. Гайдукова и С. С. Никуленко. Общее руководство хозяйственной и технической частью отдела, в том числе обеспечение реактивами и материалами, было поручено опытному в этих делах старшему лаборанту (офицеру запаса) Л. П. Кругляку.

В этих условиях подрастали научные кадры отдела. В ходе исследований они способствовали дальнейшему оснащению и совершенствованию лабораторий. Одной из первых была Н. К. Губарева, начавшая работы по геномному составу и сортовой идентификации пшениц. Исследования в этом плане вскоре были подхвачены А. В.

Конаревым, Т. И. Пеневои и А.Г.Хакимовой. Методами электрофореза и иммунохимии по белкам зерна они детально изучили природу и происхождение соответственно геномов А, В и D полиплоидных пшениц, проведя поиск их возможных филогенетических доноров среди видов дикой однозернянки и эгилопсов.

В это время В. В. Сидорова на бобовых и А. А. Ямалеева на злаках доказали антигенную специфичность гистонов и установили возможность геномного анализа растений, в том числе аллополиплоидов, по белкам хроматина – субстанции изолированных хромосом клеточного ядра. В начале 70-х годов С. Т. Сатбалдина провела филогенетический анализ виковых и фасолиевых по белкам-антигенам семян, а С. К. Григорьева – филогенетический анализ секции *Tuberarium* рода *Solanum* по белкам-антигенам клубней.

К ранним работам отдела следует отнести оригинальные исследования М. А. Блюденова по структурной и функциональной организации хромосом пшеницы и О. П. Митрофановой по генетическому контролю электрофоретических компонентов проламинов и непроламиновых белков пшеничного зерна в связи с проблемами маркирования генетических систем этой культуры.

Через стажерство, лаборантскую работу и аспирантуру отдел пополнялся новыми сотрудниками, в числе которых Н.В.Кудрякова, возглавившая исследования по изозимным системам, П. П. Стрельченко и Е. И. Гаевская, включившиеся в группу нуклеиновых кислот, А. М. Тарлаковская и Э. Э. Егги – по иммунохимии и сортовой идентификации бобовых, И. Н. Анисимова – по генетике и филогении белков семян подсолнечника, Д. И. Иванова, осуществившая исследования по белкам зерновки риса, и другие.

Из публикаций первых лет назову серию статей В. Г. Конарева, И. П. Гаврилюк и Н. К. Губаревой под общим названием: “Белковые маркеры геномов пшениц и их диких сородичей” (Вестник сельскохозяйственной науки”, 1970, вып. 8 и 9). Это было началом публикаций по молекулярно-генетическому анализу культурных растений и их диких сородичей в связи с проблемами происхождения и эволюции при окультуривании. Тогда же впервые был введен термин “белковые маркеры генома”. Были выявлены варианты генома А – подгеном  $A^u$  от дикой однозернянки *Triticum urartu* и подгеном  $A^b$  от однозернянки *T. boeoticum*, которые соответствуют двум направлениям эволюции полиплоидных пшениц – ряду Тургидум с геномом  $A^u$  и ряду Араратикум с геномом  $A^b$ . Как оказалось, пшеницы

первого ряда, куда входят сорта твердой и мягкой пшениц, геном В получили от *Aegilops longissima*, второго – от *Ae. speltoides*; эти подгеномы обозначены соответственно В<sup>1</sup> и В<sup>sp</sup>. Источником генома D хлебопекарной пшеницы оказался эгилопс *Ae. squarrosa* ssp. *strangulata* (D<sup>str</sup>). Результаты этих исследований были опубликованы в ряде статей и обзоре: “О природе и происхождении геномов пшеницы по данным биохимии и иммунохимии белков зерна” (Конарев, Гаврилюк, Пенева, А.В. Конарев, Хакимова и Мигушова. С.-х. биология, №5, 1976).

По такому же принципу был осуществлен геномный анализ других видов, имеющих полигеномную структуру генотипа и образующих аллополиплоидные комплексы с дикими сородичами (овес, рис, пырей, овсяница, другие кормовые злаки, картофель, овощные крестоцветные, подсолнечник и ряд плодовых и ягодных культур). Геномные отношения между видами в пределах рода, трибы и семейства были изучены также практически у всех культур и их сородичей с диплоидным генотипом (ячмень, рожь, кукуруза, бобовые и т. д.). Такой анализ позволил установить степень родства культурных растений с их дикими сородичами и облегчил поиск источников для селекции.

Электрофоретический анализ полиморфных белков дал возможность раскрывать генетический потенциал видов и популяций, идентифицировать генотипы и регистрировать сорта, биотипы, линии и гибриды в виде белковых формул. В этом направлении особое внимание было уделено изучению генетической организации сортов – биотипному составу сортов-самоопылителей и генетической структуре сортовых популяций перекрестников. На примере мягкой пшеницы отчетливо показано деление сортов на монотипные, представленные одним белковым биотипом (зерна сорта дают один тип спектра маркерного белка), и политипные (два и более типов спектра).

Основными объектами изучения сортовых популяций и перекрестников с самого начала работ были кукуруза и рожь. Исследования В. В. Сидоровой и сотрудников по кукурузе привели к разработке метода идентификации по зеину сортовых популяций, регистрации инбредных линий, оценке генетической конституции многолинейных гибридов и к определению гибридности семян первого поколения в гетерозисной селекции и семеноводстве гибридной кукурузы.

Т. И. Пенева с сотрудниками на обширном генофонде сортовых популяций ржи и образцах ее диких видов по маркерным белкам зерновки – секалинам – осуществила фундаментальное изучение

внутрипопуляционной изменчивости растения в процессах селекции, семеноводства, а также в производственных посевах, установив ряд закономерных связей степени полиморфизма и состава популяций с формированием важных биологических свойств и хозяйственных признаков.

Аналогичные работы были проведены также и на других перекрестноопыляющихся растениях.

Важность идентификации геномов и генотипов, как и соответствующих им типов (или принципов) геномного и биотипного анализа, состоит в том, что с ними, как правило, связаны самые существенные и генетически и морфогенетически наиболее сложные биологические свойства и хозяйственно ценные признаки, недоступные методам обычного генетического анализа.

*Геномный* – по видоспецифичным белкам-антигенам, *генотипический* – по спектру компонентов белка единичных зерновок и *генетический* – по отдельным компонентам маркерного полиморфного белка – анализы в совокупности открывают большие возможности как для решения теоретических проблем ботаники и генетики, так и для осуществления практических мероприятий в селекции и семеноводстве.

Эти анализы в ряде случаев подкреплялись исследованиями с применением методов молекулярной гибридизации ДНК–ДНК (Тютерев, Махлаева); позднее для этого были использованы ПДРФ- и ПЦР-технологии. Для выяснения принципиальных вопросов биосинтеза запасных белков в зерновке злаков, связанных с использованием их в качестве генетических маркеров, были поставлены эксперименты по внеклеточному синтезу их на основе информационных РНК, выделенных из зерновки (Стрельченко). Исследования по кинетике реассоциации денатурированной (диссоциированной) ДНК разных видов и форм пшеницы и ее диких сородичей позволили составить представление о главных путях преобразования (усложнения) генома в эволюции и при окультуривании растений (Гаевская, Махлаева). В связи с различными вопросами морфогенеза растений изучались связи структурных переходов хромосом с функциональными изменениями в геноме, а также изменчивость в ДНК по числу повторов рибосомальных цистронов в ядрышковом организаторе (Тютерев, Махлаева, Алексеев Вахитов, Гилязетдинов).

Отдел провел большую работу по оценке генофонда культурных растений и их диких сородичей на содержание и качество белка, о чем



свидетельствуют 64 каталога мировой коллекции, охватывающих 26 культур с характеристикой сортов и образцов по белку.

Наряду с массовой оценкой генофонда группа белкового и аминокислотного анализа (руководитель З. В. Чмелева) совместно с группами молекулярно-биологического анализа (Гаврилюк, Губарева, Пенева) была занята исследованиями природы и молекулярной организации признаков качества урожая некоторых зерновых, бобовых и масличных культур. При этом особое внимание было уделено клейковинному комплексу и хлебопекарным свойствам муки хлебных злаков. Результаты этих исследований легли в основу модели формирования клейковины при замесе теста и представлений о генетической и морфогенетической сущности сложных признаков качества. Эти представления могут быть перенесены на многие другие сложные хозяйственные признаки, и даже биологические свойства. Согласно этим представлениям, *для сложного признака характерны широкие пределы фенотипической изменчивости и сортовая, видовая и т.д. специфичность. Формирование сложного признака в онтогенезе растения, в отличие от простого, идет под контролем генетических систем всех трех основных уровней – аллельного, геномного и геномного.* В перспективе – познание уровня мобильных элементов генома как четвертого уровня генетического контроля сложного признака.

Результаты работ публиковались в разных изданиях страны и за рубежом в статьях, монографиях, сборниках трудов. Всего опубликовано сотрудниками отдела за истекшее время в виде статей и докладов около 900 работ, из них 40 в зарубежных изданиях.

Наиболее существенные публикации Отдела молекулярной биологии помещены в “Трудах по прикладной ботанике, генетике и селекции” с названиями:

*“Белки, нуклеиновые кислоты и проблемы прикладной ботаники, генетики и селекции”* – Труды. Т. 52, вып.1. 1973.

*“Белки и нуклеиновые кислоты в геномном и генетическом анализе культурных растений и их диких сородичей”* – Труды. Т. 63, вып.3. 1979.

*“Белки в изучении культурных растений и их диких сородичей”* – Бюллетень ВИР. Вып.92. 1979.

*“Ресурсы растительного белка и проблемы его качества”* – Труды. Т. 70, вып.2. 1981.

*“Белковые маркеры в сортовой идентификации и регистрации генетических ресурсов культурных растений”* – Труды. Т. 114. 1987.

Сюда следует отнести “материалы 3-го Международного симпозиума ИСТА”, проведенного в ВИРе в 1987 г. (*Biochemical Identification of varieties* – Materials III Intern.Symp.ISTA. Leningrad, 1987) и издание 1-го тома “Теоретических основ селекции”: “Молекулярно-биологические аспекты прикладной ботаники, генетики и селекции” (М.: Колос, 1993). В 1996 г. на основании рекомендаций специалистов США в области селекции и молекулярной биологии на средства американской Ассоциации международного развития и международного Института генетических ресурсов растений (IPGRI, Италия) этот том издан в английском варианте: “*Molecular biological aspects of applied botany, genetics and plant breeding*” (St.-Petersburg, 1996).

Отдел участвовал в симпозиумах и соответствующих публикациях, посвященных важнейшим и фундаментальным проблемам биохимии и молекулярной биологии, в числе которых:

“Структура и функции клеточного ядра” (М.: Наука, 1967).

“Клеточное ядро и его ультраструктуры” (М.: Наука, 1970).

“Проблемы белка в сельском хозяйстве” (Сессия ВАСХНИЛ. М.: Колос, 1973/1975).

“Физиология растений в помощь сельскому хозяйству” (М.: Наука, 1974).

“Растительные белки и их биосинтез” (М.: Наука, 1975).

“Гетерозис” (Минск: Наука и техника, 1982).

“Геном растений” (Киев: Наукова Думка, 1988).

За это время были написаны монографии:

– “Белки пшеницы” (М.: Колос, 1980).

– “Белки растений как генетические маркеры” (М.: Колос, 1983).

– “Вид как биологическая система в эволюции и селекции” (Биохимические и молекулярно-биологические аспекты. С.-Петербург, 1995).

– “Морфогенез и молекулярно-биологический анализ растений” – в печати.

Результаты регистрации генофонда культурных растений и их диких сородичей опубликованы в виде “методичек”, каталогов белковых формул сортов, биотипов и линий (31 выпуск) и каталогов образцов мировой коллекции с характеристикой по содержанию и аминокислотному составу белка в зерне (64 выпуска). Они предназначены для селекционеров по соответствующим культурам и биохимикам при селекцентрах.

Некоторые результаты исследований подкреплены авторскими свидетельствами. Первым было авт. свид. №507271: “Способ сортовой идентификации зерна и муки, например пшеницы” (приоритет 1972) – как бы результат выполнения наказа наших учителей – Н. И. Вавилова и Н. Н. Иванова: “...найти по белкам тонкие различия между сортами и установить, чем отличаются белки зерна мягкой (хлебопекарной) пшеницы от белков твердой (макаронной)”. Сущность метода состоит в получении электрофореграммы глиаина, составлении его “белковой формулы” и определении сортовой принадлежности испытуемого образца по заранее созданному каталогу сортовых формул.

Одно из свидетельств (№ 487627, приоритет 1973) было посвящено определению поврежденности зерна и муки пшеницы сосущими вредителями и вида вредителя: при приеме зерна предложенным методом можно установить, было ли оно повреждено вредной черепашкой (за что снижается закупочная цена до 40-50%) или другими клопами – ягодной, травяной (или остроплечей) черепашками, которые не вызывают снижения хлебопекарных свойств муки. Анализ осуществляется серологически, по белкам слюны вредителя, и дает возможность установить ареал того или иного вредителя. Другие авторские свидетельства были посвящены генетическому контролю в селекции методами белковых маркеров.

*Методическая работа и подготовка кадров.* Большое внимание отдел уделял подготовке научных кадров. За эти годы сотрудниками отдела подготовлено более 50 кандидатов биологических наук; некоторые из них стали докторами и руководителями лабораторий. При этом особое внимание было уделено подготовке специалистов по применению методов белковых маркеров в различных сферах растениеводства – в селекции, сортоиспытании, семеноводстве и семенном контроле. Для этого отдел кроме аспирантуры использовал прикомандирование для длительных стажерских практикумов научных работников практически от всех бывших союзных республик и многих автономных областей. Через стажерство в общей сложности подготовлено более 200 специалистов.

Внедрение методологии молекулярной биологии в растениеводство отдел осуществлял также путем регулярного (иногда ежегодного) проведения методических семинаров по разным вопросам сортовой идентификации, иммунохимического анализа, сортоиспытания, семенного контроля и т. д. Эффективности этих семинаров способствовали периодически издаваемые отделом методические указания (“методички”), из которых особенно широко использовались методические пособия И.П.

Гаврилюк и Н.К. Губаревой “*Методические указания по иммунохимическому и электрофоретическому исследованию растительных белков*” (Л.: ВИР, 1973) и “*Определение подлинности и сортовой чистоты семян пшеницы по электрофоретическому спектру глиадина*” (Л.: ВИР, 1975).

Совместно с Государственной комиссией по сортоиспытанию сельскохозяйственных культур при Госагропроме СССР составлены “*Рекомендации по использованию белковых маркеров в сортоиспытании, семеноводстве и семенном контроле*” (М.-Л., 1989).

Совместно с Санкт-Петербургским Государственным аграрным университетом изданы методические рекомендации “*Применение электрофореза белков в первичном семеноводстве зерновых культур*” (С.-Петербург: ВИР, 1993).

В числе методических указаний, посвященных методам молекулярно-биологического анализа растений, оригинальным для растениеводства является издание: “*Имунохимическое исследование белков семян*” (Егги, Гаврилюк. ВИР, 1987).

Приложенный к обзору перечень каталогов и методических указаний показывает, что исследования отдела и его методические разработки по сортовой идентификации и регистрации генофонда охватывают почти все важнейшие культуры России (они не все вошли в этот перечень).

Большую роль в координации исследований и работ по внедрению принципов молекулярно-биологического анализа в растениеводство страны сыграли проведенные ВИРОм два “*Всесоюзные совещания по белковым маркерам и их использованию в решении проблем прикладной ботаники, генетики и селекции*” (1978 и 1983) с участием около 200 биохимиков, генетиков, ботаников и селекционеров от 55 научных учреждений страны (селекцентры, НИИСХ, НИИЗ, лаборатории и кафедры ВУЗов и АН СССР).

*Международное и государственное значение поднятой нами проблемы молекулярно-биологического изучения культурных растений и их диких сородичей* было неоднократно отмечено за рубежом, например участниками 12-го Ботанического конгресса, с докладами и сообщениями на котором выступил ряд сотрудников отдела (Л., 1975). После наших докладов и публикаций по иммунохимии и электрофорезу белков как маркеров в генетическом и филогенетическом анализе растений известный шведский генетик-тритиколог Д.Мак Кей сообщил, что он уже внес

изменения в свою схему эволюции пшениц в соответствии с результатами, полученными в нашей лаборатории.

Большой интерес наши доклады вызвали на секции этого Конгресса “Серологические методы в систематике”. Участники секции попросили продолжить дискуссии в нашем отделе (г. Пушкин). В опубликованном в США отчете руководителя этой секции профессора Рутгерского университета Д. Е. Файбразеса говорится: “Доклады ясно показали, что иммунологические исследования растений внесли большой вклад в систематику. Серологическая техника применена в исследованиях таксонов разного ранга от рас до семейств. Многократно подтверждена ценность сочетания дискового электрофореза и иммунохимии. Доктор В. Г. Конарев предоставил мне и коллегам возможность познакомиться с исследованиями растительных белков, проводимых во Всесоюзном институте растениеводства им. Н. И. Вавилова, расположенном примерно в 50 км от Ленинграда. В этом институте я изучил серологические исследования, проведенные с антигенами, экстрагированными из семян бобовых. На основе использования электрофореза, изоэлектрофокусирования и иммунохимии они показали специфичность и полиморфизм отдельных групп белков. Я также ознакомился с результатами исследований, проведенных с 1969 по 1975 годы с использованием иммунохимии, электрофореза и изоэлектрофокусирования, по изучению геномов пшеницы”.

Крупнейший специалист по систематике картофеля доктор К. Очоа (Перу) пишет: “Мой визит в лабораторию белка и нуклеиновых кислот был одним из самых интересных и плодотворных, которые я когда-либо делал. Химические исследования и методы в ближайшем будущем станут одним из самых совершенных для решения вопросов таксономии культурных растений”.

Высокую оценку как приоритетным дал широкоизвестный американский биохимик и генетик-тритиколог профессор Ленарт Джонсон (1975) работам А. В. Конарева, И. П. Гаврилюк и Э. Ф. Мигушовой (1974) о природе и происхождении первого генома (генома А) полиплоидных пшениц.

Отдел имел ряд приглашений от зарубежных журналов для публикации статей по конкретным вопросам геномного анализа, сортовой идентификации и регистрации генофонда по белковым маркерам.

В 1975 году Международный симпозиум по генетическим ресурсам пшеницы, организованный Международным Советом по генетическим

ресурсам растений (IBPGR), приветствовал направление работ отдела и рекомендовал генбанкам государств испытать предложенные методы для документации генофонда (“Генетические ресурсы пшеницы”. Л.: IBPGR, ВАСХНИЛ, ВИР, 1976).

По проблемам белка в растениеводстве и молекулярно-генетическому анализу растений по белкам зерна в 70-80-х гг. отдел провел шесть двусторонних симпозиумов с INRA Франции, два с биохимиками и селекционерами ГДР и один с растениеводами Индии.

В 1980 г. наши методы сортовой идентификации были рекомендованы 19-м Конгрессом ИСТА для использования в семеноводстве и семенном контроле. При сортовом комитете ассоциации была создана рабочая биохимическая группа для стандартизации этих методов. Биохимической идентификации сортов был затем посвящен ряд симпозиумов. Проведение 3-го Международного Симпозиума было поручено нам (ВИР, 1987). Он прошел с участием ученых от 23 стран, в числе которых США, Канада, Великобритания, Франция, Германия, Италия, Австралия и Новая Зеландия (см.: “Biochemical Identification of Varieties” – Materials III Internat.Sympos. ISTA, Leningrad, USSR, 1987. L.: ISTA, VIR, 1988).

На протяжении ряда лет (с начала 80-х гг.) отдел участвует в разработке стандартных арбитражных методов идентификации сортов электрофорезом белков семян, которые теперь включены в Международные Правила семенного контроля (по пшенице, ячменю, райграсу, гороху и кукурузе) или на подходе к включению (овес, подсолнечник и рапс); хлопчатник и свекла находятся в списке первоочередных на включение. Сотрудник отдела профессор И. П. Гаврилюк – член сортового комитета ИСТА и редколлегии журнала *Plant Varieties and Seeds*.

ВИР по договору с Госкомиссией по сортоиспытанию с 1982 года до развала СССР регистрировал в виде белковых формул поступающие на испытание сорта многих культур для оценки их на оригинальность, однородность и стабильность.

Правительство всячески поддерживало перспективные направления в науке, но и строго спрашивало. В 70-х годах одной из приоритетных проблем была молекулярная биология. Мы оказались в стремнине этого потока и в 1976 г. стали предметом тщательной проверки высококвалифицированной комиссией ученых от разных институтов Академии. Расширенное Бюро ВАСХНИЛ с привлечением крупных

ученых – селекционеров, семеноводов, генетиков, биохимиков и молекулярных биологов, под председательством А. В. Пухальского – дало научному направлению отдела высокую оценку, одобрило его деятельность по внедрению методов белковых маркеров в селекцию, сортоиспытание, семеноводство и семенной контроль и приняло ряд решений, обеспечивших дальнейшее развитие отдела.

Комплекс разработанных отделом молекулярной биологии ВИР методов – геномный анализ в аллополиплоидной и интрогрессивной селекции, сортовая идентификация и регистрация генофонда сельскохозяйственных растений по белковым маркерам – был одобрен Научно-техническим советом Госагропрома СССР и рекомендован для использования в селекции, сортоиспытании, семеноводстве и семенном контроле на заседании Совета 11 ноября 1988 года.

Через аспирантуру, стажерство, методические семинары и путем прямой помощи реактивами и оборудованием отдел подготовил большое число специалистов и лабораторий, в том числе для сети Государственной семенной инспекции, создав условия, необходимые для включения методов белковых маркеров в технологии селекции, семеноводства и семенного контроля практически во всех регионах страны. К сожалению, с распадом СССР разрушились государственные системы семеноводства и семенного контроля, утрачены научные связи со многими бывшими республиками (теперь странами СНГ), поскольку в каждой из них – наши ученики и коллеги. Для нас распад государственных систем сортоиспытания, семеноводства и семенного контроля особенно чувствителен, поскольку мы вложили большой труд – готовили научные кадры для этих систем, способствовали развитию их методологии в этих направлениях и были органически связаны с ними.

*О Пушкинских лабораториях ВИР*, в составе которых был создан и работает отдел молекулярной биологии. В изучении растительных ресурсов на базе мировой коллекции культурных растений и их диких сородичей они сыграли выдающуюся роль. В 1997 г. этому крупнейшему филиалу ВИР исполнилось 75 лет. Кратко напомним хронику трех четвертей его века.

Предшественником Пушкинских лабораторий была созданная Н. И. Вавиловым в Детском Селе Центральная опытная станция прикладной ботаники и селекции. 20 мая 1922 г. она получила землю и строения, в 1923 г. переименовывается в Центральную генетическую и селекционную, начинаются работы по селекции, прикладной физиологии, иммунитету. В

1924 г. создается мукомольно-хлебопекарная лаборатория во главе с К. М. Чинго-Чингасом и лаборатория физиологии растений, которую возглавляли Н. А. Максимов, затем И. И. Туманов и В. И. Разумов; складывается совершенно новое направление в физиологии, тесно связанное с запросами сельского хозяйства: решаются проблемы засухоустойчивости, зимостойкости и индивидуального развития растений. В 1924 г. Станция, уже как отдел генетики и селекции, входит в состав созданного тогда Всесоюзного Института прикладной ботаники и новых культур. С 1925 г. в отделе под руководством Н. И. Вавилова работает Г. Д. Карпеченко, получивший впоследствии всемирную известность за исследования по отдаленной гибридизации и аллополиплоидии. В 1926 г. организуется льно-техническая лаборатория, в 1927 г. начинаются знаменитые работы Г. А. Левитского по морфологии хромосом. В 1927-1931 гг. оборудуются вегетационные домики для изучения фотопериодизма и большая холодильная установка для фундаментальных работ по физиологии. В эти и последующие годы осуществлялись работы по анатомии и цитологии, кариосистематике и кариологическому анализу растений, а также исследования Е. Н. Синской по экологии и популяциям; в отделе агрометеорологии Г. Т. Селяниновым была создана система классификации климатов мира применительно к запросам растениеводства, составлена агроклиматическая карта СССР, сыгравшая большую роль в рациональном размещении культур на территории нашего государства.

Пушкинскими лабораториями мы стали именоваться с 1939 года. Их деятельность была прервана войной в 1941 году. После военной разрухи лаборатории восстанавливались довольно быстро, особенно в 60-е и 70-е годы, когда директором ВИР был академик ВАСХНИЛ Д. Д. Брежнев. Он возродил вавиловское направление работ в Пушкинских лабораториях и стал инициатором создания новых, современных. Были усилены генетика, физиология устойчивости и иммунитет, организованы лаборатории фотосинтеза, мутагенеза и полиплоидии, построена политермостатная теплица, создан отдел автоматики и электроники.

Отдел молекулярной биологии был организован в 1967 г. (сначала как лаборатория цитобиохимии). В феврале 1997 г. ему исполнилось 30 лет. Этим годом и заканчивается его историография как самостоятельного подразделения Института: теперь он – в составе вновь образованного отдела биохимии и молекулярной биологии, собранного из остатков трех когда-то мощных отделов биохимии, молекулярной биологии и



технологической оценки сельскохозяйственных культур, претерпевших глубокое сокращение.

Сокращение штата сотрудников и объема работ произошло из-за финансовых трудностей, наступивших в период “перестройки” и “реформ” в стране. По этой причине за последние годы в названных выше лабораториях упразднен ряд стратегически важных научных направлений. В отделе молекулярной биологии ликвидирована уникальная по своим возможностям лаборатория иммунохимии, обеспечивавшая фундаментальные работы по геномному анализу растений, филогении и происхождению сельскохозяйственных культур; фактически прекращены исследования по коренным проблемам прикладной молекулярной биологии – фундаменту современных биотехнологий и генной инженерии растений; резко ослаблены работы по проблемам белка в растениеводстве, разработке и внедрению методов маркирования белками генетических систем растений для использования их в селекции, сортоиспытании, семеноводстве и семенном контроле, а также в создании современных рациональных систем документации генофонда культурных растений и их диких сородичей, чем мы были заняты эти годы.

К счастью, некоторые фундаментальные исследования в плане работ отдела удастся провести (нашими же методами) в других странах – Германии, Англии, Японии – по приглашению и с оплатой расходов этими странами.

Обидно сознавать, что, будучи совсем недавно по ряду научных позиций в области молекулярно-биологического изучения генофонда культурных растений на уровне современности, теперь отстаем из-за дефицита в реактивах, современном оборудовании и потери в кадрах, для восполнения которых потребуются многие годы. Такие же потери понесли созданные еще Н. И. Вавиловым лаборатории-ветераны – генетики, биохимии, технологической оценки и др. В тяжелом положении оказались также другие, так называемые “методические лаборатории”; большие трудности переживают отделы растительных ресурсов, составляющие основу нашего института.

Автор был в числе блокадников Ленинграда, спасавших мировую коллекцию в годы Великой Отечественной войны. Сейчас войны нет, но угроза ВИРу и его генофонду не меньшая. Надежда на Президиум РАСХН и Министерство науки РФ. Когда-то Всесоюзный Институт растениеводства сыграл роль основателя Всесоюзной Академии сельскохозяйственных наук, был ее флагманом. Хотелось, чтобы он

выполнил теперь роль стабилизатора нашей Российской сельскохозяйственной академии в это трудное и неустойчивое для науки время!

Наша задача – в научных трудах, методических описаниях и молекулярно-биологических документациях генофонда культурных растений сохранить достигнутое в надежде на преемственность в нормализованном будущем.

На фоне сложившейся в стране тяжелой экономической ситуации невольно в памяти возникают приятные воспоминания. Вот одно из них: проверка состояния и значимости исследований в нашем отделе «Биохимии и молекулярной биологии». Она состоялась в 1976 г. по приказу президента ВАСХНИЛ акад. П. П. Лобанова, под председательством академика А. В. Пухальского.

Все это закончилось постановлением Президиума ВАСХНИЛ об улучшении материального обеспечения отдела (отчет Пухальского привожу полностью):

Президенту Всесоюзной академии  
сельскохозяйственных наук  
имени В. И. Ленина  
академику Лобанову П. П.

Об использовании белковых маркеров в анализе исходного  
и селекционного материала, сортовой идентификации  
и регистрации генетических растительных ресурсов

В соответствии с Вашим распоряжением от 12 июля 1976 г. №98 комиссия в составе проф. Фадеевой Т. С. (Ленинградский гос. университет), канд. б. н. Стельмаха А. Ф. (ВСГИ), канд. б. н. Щербакова В.К., (МО ВИР), проф. Зарубайло Т. Я., проф. Дорофеева В. Ф., проф. Трофимовской А. Я. (ВИР) и канд. с.-х. н. Блохина Н. И. (Мироновский НИИ селекции и семеноводства пшеницы) под моим председательством при участии чл. корр. ВАСХНИЛ Конарева В. Г., канд. б. н. Гаврилюк И.П. (ВИР) ознакомилась с результатами работы лаборатории белка и нуклеиновых кислот ВИР и представляет на Ваше рассмотрение «Предложения по внедрению комплекса методов белковых маркеров в селекцию и семеноводство зерновых, зернобобовых, масличных, технических, овощных и других культур и дальнейшему развитию,

научных исследований в области биохимической генетики, культурных растений и их диких сородичей».

Как видно из прилагаемого документа, коллектив лаборатории под руководством Конарева В. Г. внес крупный вклад в развитие исследований по проблеме белка и нуклеиновых кислот, что получило общее признание и высокую оценку среди ученых многих стран мира, разрабатывающих эту проблему.

По существу разрабатываемой лабораторией В. Г. Конарева проблемы сообщая следующее.

Белки всех живых организмов обладают ярко выраженной биологической специфичностью. В связи с этим каждый вид растений (и животных) имеет свои специфические белки, чем дальше по происхождению друг от друга виды, тем меньше похожи их белки. Эти свойства белков известны уже давно – более 100 лет. Они широко используются в микробиологии, ветеринарии и медицине. В то же время исследования растительных белков в этом плане тормозились трудностями выделения и очистки растительных белков, обусловленными спецификой химического состава растений.

В 60-х годах в связи с резким подъемом технологического и методического уровня биохимических исследований начались одновременно интенсивные работы в области природы, специфичности и генетики растительных белков в ряде институтов СССР, США, Канады, ЧССР и других странах.

Для идентификации белков в большинстве лабораторий использованы электрофоретические методы, в некоторых – иммунохимические. В разных лабораториях исследовались разные группы белков, часто выбор белка был случаен и необоснован, что приводило к получению разноречивых результатов.

Под руководством В. Г. Конарева в эти годы было проведено систематическое исследование разных групп белков семян и вегетативных органов многих тысяч образцов злаков, бобовых, картофеля и других культур. Для идентификации белков впервые в мире использовано сочетание электрофоретических и иммунохимических методов анализа.

Как известно, электрофоретический анализ заключается в том, что белки разделяются в электрическом поле на фракции, различающиеся по заряду молекулы. Для массовых анализов используется электрофорез в гелях (полиакриламидном или крахмальном). Иммунохимический анализ основан на том, что при парентеральном (внутривенном,

внутримышечном) введении чужеродного белка (в данном случае растительного) в организме животного вырабатываются гамма-глобулины антитела специфичные для введенного растительного белка. Сыворотки животных (кроликов, мышей), содержащие антитела к определенному белку, используются для быстрого серологического выявления этого белка в любой смеси.

Все это позволило установить, что специфичность разных групп белков проявляется на разных уровнях таксонов, одни белки специфичны на уровне высших таксонов, другие – на уровне рода, вида, подвида и т.д. На этом основании разработан принципиально новый подход к использованию белков как генетических маркеров, позволяющий подбирать для маркирования рода, вида, генома и т. д. совершенно определенные, наиболее подходящие для этой цели белки. Такие белки, присущие, например, всем представителям одного вида и отсутствующие у других видов, названы «белковыми маркерами» вида. Могут быть маркеры рода, генома, генетической группы и т. д.

Термин «белковые маркеры» первым использовал В. Г. Конарев в 1970 г. в серии статей под общим названием «Белковые маркеры геномов пшеницы и её диких сородичей», опубликованных в «Вестнике сельскохозяйственной науки» №8 и №9 за 1970 г. До этого в 1968 г. индийскими учеными Barber H. N., Driscoll C., Vickery R. в одной из статей был применен термин «энзиматические маркеры», который касался использования только одной узкой группы белков-ферментов в качестве маркеров.

В. Г. Конаревым с сотрудниками в 1969 г. впервые обнаружена серологическая специфичность гистонов – основных белков хромосом. До этого считалось, что эти белки неспецифичны и одинаковы «у гороха и теленка» (по данным Д. Боккера, 1970, США). В. Г. Конарев показал, что специфичность гистонов проявляется в основном на уровне рода. Это открывает новые возможности для идентификации хромосом у межродовых гибридов и амфидиплоидов (Генетика, 8, 1972).

Наиболее ярко выраженной видовой специфичностью, по данным лаборатории В. Г. Конарева, обладают запасные белки семян. Состав и специфичность белков семян не зависит от условий, места, репродукции и сроков хранения. Эти белки лучше других подходят в качестве маркеров.

Используя запасные белки зерна злаков (проламины), В. Г. Конарев провел очень важные исследования, связанные с выяснением происхождения мягкой пшеницы. Как известно, мягкая пшеница является

аллогексаплоидом с геномной формулой AABBDD, а твердая – тетраплоидом с геномной формулой AABB. Считалось, что источником генома А послужили однозерянки (*T. monococcum*), генома В – *Aegilops speltoides*, а генома D – *Aegilops squarrosa*.

В последние годы во всем мире накопилось очень много генетических, цитогенетических и биохимических данных, которые не укладывались в это представление.

В. Г. Конаревым впервые по белкам-маркерам обнаружена дифференциация геномов А, В и D пшеницы. Установлено, что геном А видов пшеницы *T. boeoticum*, *T. monococcum* идентичен, но отличается от генома А вида пшеницы – *T. urartu*. Выявлены белки-маркеры для обоих типов этих геномов А<sup>b</sup> и А<sup>u</sup>. По этим маркерам установлено, что геном А<sup>b</sup> имеется только в тетраплоидных пшеницах группы *T. timopheevi*, геном А<sup>u</sup> – у тетраплоидов эммера, в том числе у *T. durum* и *T. aestivum*.

В результате проведенных В. Г. Конаревым и его сотрудниками исследований установлено, что с геномом А<sup>b</sup> связаны высокое содержание белка в зерне (28-31% при 2,5% лизина) и высокая устойчивость к ряду грибных заболеваний, тогда как у однозернянок, для которых свойственен геном А<sup>u</sup>, содержание белка в зерне не превышает 26-28%, а содержание лизина в белке – 2,3%.

Белковые маркеры этого генома использованы для выявления его у существующих видов пшеницы, а также для контроля за включением его при гибридизации во вновь создаваемые амфидиплоиды и гибриды.

К настоящему времени в Отделе генетики ВИР созданы, переданы в коллекцию и разосланы в селекцентры гексаплоидные амфидиплоиды с геномом А<sup>b</sup>. Для них характерна высокая устойчивость к болезням и высокое содержание и качество белка за счет генома А<sup>b</sup>, но низкие хлебопекарные качества из-за отсутствия генома D.

Получен ряд гибридов между этими амфидиплоидами и мягкой пшеницей. Среди них ведется отбор форм и линий, сочетающих устойчивость к болезням с повышенным содержанием белка и хорошими хлебопекарными качествами.

Прямой отбор на эти признаки требует не менее 10 г зерна. Отбор по белкам маркерам геномов А<sup>b</sup> и D позволяет, истратив лишь часть эндосперма одного или нескольких зерен и сохранив их жизнеспособность, провести отбор форм, сочетающих признаки А<sup>b</sup> и D геномов и выбраковать формы с отсутствием А<sup>b</sup> или D, у которых бесполезно в дальнейшем ждать проявления желаемых признаков.

О принципиальном значении этих исследований свидетельствует следующее. Интенсивные исследования происхождения геномов пшеницы разными путями, в том числе и электрофорезом белков, ведутся известным американским генетиком Л. Джонсоном. Сообщение лаборатории В. Г. Конарева о дифференциации генома А было опубликовано в Докладах ВАСХНИЛ в июне 1974 г. В августе 1974 г. в *Canadian Journal of Genetic and Cytology* опубликовано сообщение Л. Джонсона об отличии генома *T. urartu* от генома *T. boeoticum*. В этой статье он пишет:

«...в статье Конарева с сотрудниками, опубликованной в июне 1974 года сообщается, что, исходя из иммунохимического анализа глиадина группа *T. boeoticum* – *T. monococcum* могла быть донором генома А только для тетраплоидов группы *T. timopheevi*, а *T. urartu* – донором генома А для тетраплоидов эммера». Эта цитата свидетельствует о том, что зарубежные ученые очень внимательно следят за работами лаборатории В. Г. Конарева и признают приоритет его в области исследования геномов.

После посещения лаборатории В.Г.Конарева в 1975 г. во время XII Международного Ботанического конгресса, Л. Джонсон в письме В. Г. Конареву писал: «Дорогой профессор Конарев, это запоздавшее письмо благодарности Вам и Вашим коллегам из Всесоюзного института растениеводства им. Н. И. Вавилова за очень полезный и восхитительный визит в Вашу лабораторию во время XII Международного Ботанического Конгресса. Было очень приятно обсудить наши общие интересы и подходы к использованию электрофореза белков для исследований путей эволюции пшениц. Вас можно поздравить с прогрессом, сделанным в Вашей лаборатории в различных использованиях электрофореза и других аспектах исследования белков».

В книге автографов гостей лаборатории белка и НК ВИР Л. Джонсон сделал следующую запись: «По возвращении домой я проведу ряд исследований, основанных на идеях, полученных здесь».

Руководитель исследований по пищевым белкам в США, доктор Д. Казарда пишет: «Ваши работы по происхождению геномов крайне интересны. Мы провели некоторые подобные исследования в нашей лаборатории, но не сделали так много».

Работы В. Г. Конарева по белкам получили высокую оценку на XII Международном Ботаническом конгрессе. Здесь была доложена схема происхождения геномов пшеницы, предложенная В. Г. Конаревым Она вызвала большой интерес тритикологов. Известный шведский генетик, специалист по пшенице Д. Мак-Кей сообщил, что он уже внес изменения в

свою схему эволюции пшениц в соответствии с результатами, полученными лабораторией В. Г. Конарева.

На секции «Серологические методы в систематике» XII Международного Ботанического конгресса из 10 докладов два были сотрудников лаборатории В. Г. Конарева (В. Г. Конарев : «Белки в изучении филогении растений» и И. П. Гаврилюк «Серологическая специфичность белков семян бобовых и ее использование в таксономии»). Доклады вызвали большой интерес и по просьбе участников конгресса работа этой секции и дискуссия были продолжены в г. Пушкине в лаборатории В.Г. Конарева.

В опубликованном в США отчете руководителя этой секции, проф. Рутгерского университета Д. Файбразеса говорится:

«Доклады ясно показали, что иммунологические исследования растений внесли большой вклад в систематику...Серологическая техника применена в исследованиях таксонов разного ранга от рас до семейств. Многократно подтверждена ценность сочетания дискового электрофореза и иммунохимии. Доктор В. Г. Конарев представил мне и коллегам возможность познакомиться с исследованиями растительных белков, проводимых во Всесоюзном институте растениеводства им. Н. И. Вавилова, расположенном примерно в 50 км от Ленинграда. В этом институте я изучил серологические исследования, проведенные с антигенами, экстрагированными из семян бобовых. На основе использования электрофореза, изоэлектрофокусирования и иммунохимии они показали специфичность и полиморфизм отдельных групп белков. Я также познакомился с результатами исследований, проведенных с 1969 по 1975 годы с использованием иммунохимии, электрофореза и изоэлектрофокусирования, по изучению геномов пшеницы».

Сотрудники В. Г. Конарева совместно с крупными специалистами по культурам С. М. Букасовым, И. Р. Ивановым, Н. И. Корсаковым и др. провели исследования с целью уточнения отдельных вопросов филогении и систематики ряда культур. Результаты этих исследований позволили решить ряд спорных вопросов, учтены при разработке систематики сои, фасоли, картофеля, гречихи и других культур.

Крупнейший специалист по систематике картофеля доктор К. Очоа (Перу) пишет: «Мой визит в лабораторию белка и нуклеиновых кислот был одним из самых интересных и плодотворных, которые я когда-либо делал. Химические исследования и методы в ближайшем будущем станут одним

из самых совершенных для решения вопросов таксономии культурных растений».

На основе исследования специфичности белков в лаборатории В. Г. Конарева получены результаты, ценные не только для теории, но и для практики. Так, разработаны способы быстрого серологического обнаружения засоренности зерна и муки твердой пшеницы зерном мягкой, различия фатуоидов и овсюгов, определения подлинности и чистоты трудно-различимых по морфологическим признакам семян бобовых и крестоцветных, а также определения поврежденности зерна и муки пшеницы сосущими вредителями и вида вредителя (авторское свидетельство № 477627 – 1973 г.). В частности, при приемке зерна можно установить, было ли оно повреждено вредной черепашкой (за что снижается закупочная цена на 40%), или другими клопами (ягодной, травяной, остроплечей), которые не вызывают снижения хлебопекарных свойств муки. Кроме того, такой анализ позволяет установить ареал и вредителя путем серологического анализа зерна на наличие в нем белков слюны того или иного вредителя.

В настоящее время лаборатория имеет около 600 иммунных сывороток на различные растительные белки, которые используются для определения родовой, видовой принадлежности, геномного состава и происхождения образцов злаков, бобовых, картофеля, гречихи, крестоцветных, подсолнечника и др. культур.

Весьма ценны работы В. Г. Конарева по совершенствованию методов сортовой идентификации и регистрации генетических ресурсов культурных растений и их диких сородичей. В 1961 г. Д. Войчик (США) электрофоретически разделил запасной белок пшеницы – глиадин на четыре фракции  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  и  $\omega$ . Французские ученые Bourdet A., Feillent P., Mettavant F. в 1963, а голландский ученый Doekes A. и американцы Hubner F., Rothfus A. в 1968 году сообщили о различиях в составе глиадинов у разных сортов пшеницы. В последующие годы работы в этом плане развивались одновременно и независимо в Австралии К. Ригли и К. Шефердом и в СССР В. Г. Конаревым. В 1969 г. австралийцы, а в 1970 г. В. Г. Конарев сообщили о том, что различия в составе глиадинов не случайны, а связаны с геномным составом пшениц и могут быть использованы для идентификации сортов (Работы эти были выполнены одновременно, но статья В. Г. Конарева находилась в редакции около года).



В эти годы было предложено несколько различных модификаций метода электрофореза глиадинов, позволяющих выявлять сортовые различия. В том числе в 1969 г. В. Г. Конаревым была опубликована методика дискового электрофореза проламинов в полиакриламидном геле, позволяющая четко разграничивать фракции глиадинов, что значительно облегчает идентификацию отдельных компонентов. В 1971 г. А. А. Созиновым предложен метод дискового электрофореза в крахмальном геле, позволяющий проводить массовую оценку селекционного материала.

Спектры глиадинов одних и тех же сортов, представленные в работах американских, французских, австралийских и советских ученых, полученные и в крахмальном, и в полиакриламидном гелях, не имеют принципиальных различий, они идентичны по числу и распределению компонентов и одинаково отражают особенности сорта.

Сотрудники лаборатории В. Г. Конарева считают, что для получения спектров может быть применена любая модификация метода и любой гель, позволяющий разделить и идентифицировать компоненты глиадина. В лаборатории В. Г. Конарева предпочитают использовать полиакриламидный гель как стабильный химический полимер. Он прозрачный и поэтому компоненты глиадина видны в нем без окрашивания. Это значительно ускоряет анализ, т. к. исключается процедура окрашивания и удаления избытка красителя.

Главная трудность в применении электрофореза для сортовой идентификации заключается в том, чтобы найти способ записи документации результатов. Поиски путей решения этой проблемы велись одновременно в нескольких лабораториях: в СССР в ВИРе (В. Г. Конарев), во Франции и в Австралии.

А. А. Созинов (ВСГИ) в эти годы, работая с набором отечественных сортов, для обозначения компонентов спектра, добавлял к ним первую букву из названия сорта (О – для Одесской 16, Б – для Безостой 1). Это позволило идентифицировать состав компонентов в спектрах гибридов при работе с небольшим числом сортов.

В 1973 году Ж. Отран (Франция) предложил свой способ записи спектров. Он разбил весь спектр на 100 позиций и ввел обозначения компонентов знаком +. В 1975 году он опубликовал каталог 73 возделываемых во Франции сортов пшеницы с характеристикой спектров глиадина. Для обозначения типа спектра ему, кроме знака + пришлось ввести еще целый ряд значков (О, Е, □, ◇ и др.). Такой способ неприемлем для записи большой коллекции сортов.

В 1974 году австралийцы К. Ригли и К. Шеферд опубликовали характеристики глиаина для 55 сортов, возделываемых в Австралии. Для записи спектров они использовали предложенные Д. Войчиком обозначения фракций глиаина  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  и  $\omega$ , ввели буквенные и цифровые обозначения для компонентов и их групп, специфичных для разных сортов. Однако при такой системе записи отсутствуют обозначения «ключевых» позиций и исследование новых сортов потребует введения дополнительных обозначений. Таким образом, предложенные французскими и австралийскими учеными способы записей при идентификации сортов имели ряд существенных недостатков.

В 1972 году В. Г. Конаревым на основе изучения глиаинов видового разнообразия пшеницы и ее диких сородичей был создан впервые в мире эталонный спектр глиаина, включающий все, возможные позиции компонентов глиаина и позволяющий записать в виде белковой формулы состав глиаина, специфичный для сорта, линии, биотипа (авторское свидетельство № 507271, 1972 г.). При этом предложена номенклатура компонентов для всех фракций глиаина в соответствии с делением его по Войчику на  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  и  $\omega$ . Это дало возможность точно указать месторасположение каждого компонента в спектре, выделить «ключевые позиции», общие для всех видов и сортов пшеницы, от которых ведется отсчет позиций отдельных компонентов. Одним из достоинств эталонного спектра является коррекция на длину разгонки при электрофорезе. Введение такой коррекции значительно упрощает и ускоряет проведение анализа.

В 1972-1975 г.г. в ВИРе осуществлена запись белковых формул для всех диплоидных носителей геномов А, В и D (более 500 образцов), для видов пшеницы (более 1000 образцов), для районированных сортов мягких и твердых пшениц.

Изучение видового и сортового разнообразия ржи, ячменя и овса показало, что эталонный спектр применим для записи белковых формул и для этих культур. Сейчас подготовлены белковые формулы для 500 образцов тритикале и 300 образцов ячменя. В 1975 году изданы каталоги белковых формул для 100 районированных сортов пшеницы и для 100 сортов ячменя.

В 1975 году результаты этой работы докладывались на симпозиуме ФАО по генетическим ресурсам пшеницы. Способ записи сортов в виде белковых формул признан прогрессивным и перспективным для создания единой системы регистрации мировых генетических ресурсов пшеницы и

других злаков. От редактора «Новостей ФАО» Э. Беннет получено следующее предложение:

«Дорогой проф. Конарев, это письмо подтверждает мою раннюю просьбу о напечатании Вашей статьи от 3000 до 4000 слов с иллюстрациями, посвященную идентификации злаков (и других) культур с помощью метода электрофореза, а также о применении этого метода в качестве таксономического теста для регистрации генетического материала. Мы считаем за большую честь опубликовать Вашу статью в нашем журнале, как только мы её получим».

В 1976 году В. Г. Конарев получил из ФРГ от доктора Ф. Г. Фишбека, председателевавшего на симпозиуме ФАО, зерно сортов озимой и яровой пшеницы, возделываемых в ФРГ, а также восьми сортов, у которых предполагается наличие хромосом от ржи для проведения анализа и регистрации этих сортов. В своем письме д-р Фишбек сообщает, что по методике В. Г. Конарева «лаборатория химии злаков нашего института провела экспериментальную работу и получила очень хорошие, перспективные результаты».

Таким образом, заслугой В. Г. Конарева является разработка метода идентификации и регистрации сортов в виде белковых формул. Запись сортов в виде белковых формул удобна для хранения информации и обработки её на компьютерах, Наличие формул для всей коллекции растительных ресурсов ВИР позволяет быстро установить оригинальность и новизну вновь поступающих в коллекцию образцов, исключить дублирование провести экспертизу материалов, полученных от селекционеров и опытников. Так, в 1975 году проведен анализ зерна, полученного от опытника П. М. Пономарева и установлено, что его сорт «Безостая Пономарева» идентичен сорту Безостая 1, а сорт «Остистая Пономарева» – сорту «Красная звезда», ячмень Пономарева – сорту Унумли Арпа. Очень важными представляются работы по регистрации не только районированных и перспективных сортов, но и стародавних сортов и сортов народной селекции с целью сохранения сортового фонда. Исследования, проведенные в лаборатории В. Г. Конарева по бобовым, позволили установить, что запасные белки семян этих культур обладают видовой специфичностью и могут использоваться как маркеры видов. Кроме того, это позволяет разработать новый подход к оценке качества белка бобовых. Известно, что глобулины составляют до 80% белка семян. Глобулины всех бобовых состоят из двух компонентов, названных у гороха вицилином и легумином.

Установлено, что легумин сбалансирован по аминокислотному составу, а вицилин резко дефицитен по метионину. Следовательно, содержание этого белка обуславливает пониженное содержание метионина в белке семян бобовых. Прямое определение метионина химическими методами и на аминокислотных анализаторах связано с большими трудностями и практически до сих пор нет надежных методов определения этой аминокислоты. В лаборатории В. Г. Конарева разработан быстрый серологический метод определения этих белков, соотношением которых и определяется фактически содержание метионина. Отбор исходного и селекционного материала на повышенное содержание легумина и снижение содержания вицилина значительно облегчит селекцию на качество белка бобовых.

Знакомясь в деталях с работами лаборатории белка и нуклеиновых кислот ВИР, руководимой чл.-корр. ВАСХНИЛ В. Г. Конаревым, комиссия пришла к единодушному мнению, что эти работы, проводимые этой лабораторией, имеют не только важное теоретическое значение, но и открывают новые перспективы развития и повышения эффективности селекции сельскохозяйственных культур, т. к. дают возможность использовать спектры проламинов при подборе родительских компонентов при гибридизации, при селекции на качество зерна, иммунитет и другие ценные признаки.

Председатель Совета по научно-  
методическому руководству  
селекцентрами, академик

А. Пухальский

23.IX. 1976 г.

## II. ПРИЛОЖЕНИЯ

### 1. БЕЛКОВЫЕ МАРКЕРЫ

в анализе исходного и селекционного материала, сортовой идентификации и регистрации генетических ресурсов культурных растений и их диких сородичей<sup>1</sup>

В. Г. Конарев

(Всесоюзный институт растениеводства  
им. Н. И. Вавилова, Ленинград)

1. Для осуществления работ по теоретической и прикладной молекулярной биологии и генетике в 1967 году в ВИРе организована лаборатория белка и нуклеиновых кислот, главные задачи которой – разработка молекулярно-биологических основ морфогенеза и новых методов молекулярно-генетического анализа культурных растений и их диких сородичей как исходного материала для селекции. Одним из основных направлений лаборатории в этом плане является разработка принципа белковых маркеров и методов филогенетического и генетического анализа растений по белковым признакам.

2. За последние годы в СССР и за рубежом ведутся интенсивные исследования природы, биологической специфичности и генетики растительных белков. Результаты этих исследований находят все более широкое применение в решении актуальных вопросов эволюции, генетики и селекции растений – в определении филогенетических отношений между видами, идентификации видов, выявлении внутривидового полиморфизма, в поисках хозяйственно ценных мутантов, не имеющих морфологических различий, и других исследованиях (Джонсон, 1963-1976; Яска, 1969-1976; Шеферд, 1968-1975; Ригли, 1973-1975; Отран, 1973-1975; Лестер и Хокс, 1972; Клоз, 1962-1975 и др.).

Успеху работ в этом направлении способствовал резкий подъем общего уровня биохимических исследований, особенно в связи с появлением в 60-х годах новых методов выделения и идентификации белков. Среди них наиболее широкое распространение получили различные варианты электрофореза, а также гелевой и ионообменной

---

<sup>1</sup> Доклад на расширенном Бюро Президиума ВАСХНИЛ, посвященном этой проблеме (17 февраля 1977 г.)

хроматографии. Для идентификации растительных белков лишь немногие лаборатории используют метод иммунохимии (Клоз и Клозова, 1962-1975; Лестер и Хокс, 1967-1973; Гаврилюк, Конарев, 1965-1976). В разных лабораториях исследовались разные группы белков. Нередко выбор белка был случайным, что приводило к противоречивым результатам.

3. В ВИРе в течение 1967-1976 годов проведены систематические исследования разных групп белков семян и вегетативных органов многих тысяч образцов злаков, бобовых, картофеля и других культур с применением современных методов молекулярной биохимии и иммунохимии. Для идентификации белков, выявления их полиморфизма и специфичности впервые использовано сочетание электрофоретических и хроматографических методов (гелевая и ионообменная хроматография) с иммунохимическим методом. Они показали, что специфичность разных групп белков неодинакова: у одних она проявляется на уровне рода, трибы, семейства, у других – на уровне вида, подвида, генетических групп (Конарев, Гаврилюк, Губарева, 1970, 1975). К первой относятся белки эволюционно консервативные, с древней функцией. Они могут быть маркерами крупных таксонов и представляют большой интерес для эволюционной ботаники. Наиболее детально в этом плане изучены гистоны – основные белки хромосом. Нами доказана серологическая специфичность гистонов и показана возможность геномного анализа межродовых амфидиплоидов по белкам хромосом.

Вторая группа представлена эволюционно молодыми белками, среди которых запасные белки и многие ферменты. Они содержат маркеры рода, вида, генома и представляют большой интерес для прикладной ботаники, главными задачами которой являются происхождение культурных растений и внутривидовая дифференциация.

Наконец, третью группу составляют генетически полиморфные белки, спектр компонентов которых (как совокупность генетических вариантов функционально одноименных белков) специфичен на уровне биотипа, сорта или линии и зависит от генетических рекомбинаций в пределах вида, подвида и генетических групп. Они отражают аллельную структуру гена и представляют большой интерес для генетических исследований.

4. Совокупность сведений о специфичности белка и возможностях ее выявления позволила сформулировать ряд общих принципов использования белков как маркеров вида, генома, генетических систем и

т.д. в филогенетическом и генетическом анализе растений (Конарев, Гаврилюк, Губарева, 1970; Конарев, 1972-1974, 1976).

Сущность принципа белковых маркеров заключается в следующем. Белок – первичный продукт элементарной генетической системы, и каждый из его компонентов по существу является копией или маркером своего гена или локуса ДНК. Поскольку гены сопряжены в генетические системы, локализованы в конкретных хромосомах, которые в свою очередь являются частью генома, то белок одновременно может быть маркером соответствующей генетической системы, хромосомы или генома в целом. Совокупность таких белков-маркеров дает представление о структуре генома или его отдельных областей.

5. В филогенетическом и генетическом анализе организма по белкам первостепенное значение имеет выбор белков-маркеров и соответствующих методов оценки их специфичности. Белки-маркеры должны быть доступны выделению и идентификации, обладать хорошо выраженной видовой, геномной и т.д. специфичностью. Для оценки структуры генотипа важно иметь набор мономорфных и генетически полиморфных белков. Для сведения к минимуму фенотипической и функциональной изменчивости белки-маркеры должны принадлежать морфогенетически однородным тканям.

В каждом случае ценность белка как маркера зависит от степени изученности его молекулярной природы, генетики и филогении. В генетическом плане особенно важны сведения о возможности маркирования тех геномов и генетических систем, с которыми связаны хозяйственно ценные признаки.

В работе с белками-маркерами следует различать два этапа: поиск белков-маркеров и практическое использование их в прикладной ботанике, генетике, селекции и семеноводстве. На первом этапе привлекается весь комплекс современных методов молекулярной биохимии, необходимый для выделения, идентификации и выявления биологической специфичности белка. На втором – строго очерченный перечень методов – точных, быстрых и доступных любой биохимической лаборатории, обслуживающей селекцию и семеноводство.

Поскольку биологическая специфичность белка, оцениваемая электрофоретически, хроматографически и особенно иммунохимически, сопряжена с высшими структурами его молекулы, в методиках анализа должны быть предусмотрены условия, необходимые для сохранения нативных свойств белка.

6. Наиболее полно перечисленным выше требованиям отвечают запасные белки семян, среди методов – различные варианты иммунохимического и электрофоретического анализа. Первый дает возможность устанавливать родовую, видовую и геномную принадлежность белка, второй – выявлять внутривидовую дифференциацию, идентифицировать сорта, биотипы и линии. В сочетании эти методы позволяют оценивать структуру геномов культурных растений, их происхождение, связь с геномами диких сородичей, осуществлять геномный и генетический анализ исходного и селекционного материала.

7. Нами предложены варианты иммунохимического и электрофоретического анализа, которые не требуют сложного оборудования и дают возможность по белкам-маркерам на отдельных зернах вести массовые анализы исходного и селекционного материала (Гаврилюк, Губарева, Конарев, 1970, 1973, 1975). Они нашли применение в практике работы многих лабораторий и в изучении мировой коллекции культурных растений и их диких сородичей в связи с решением актуальных проблем прикладной ботаники, генетики и селекции.

К настоящему времени подобраны белки-маркеры разных уровней специфичности для филогенетического и генетического анализа всех видов пшеницы, ржи, ячменя, овса, основных видов бобовых, картофеля и других растений. Для серологической идентификации белков-маркеров и геномного анализа растений создан фонд иммунных сывороток (более 600), который включает богатую информацию о геномах важнейших сельскохозяйственных растений и их диких сородичей.

8. Использование белковых маркеров позволило внести ряд уточнений в вопросы систематики и происхождения пшеницы, ржи, ячменя, представителей триб виковых и фасолиевых, картофеля, гречихи и других культур (см. библиографию работ лаборатории белка и нуклеиновых кислот ВИР. Л., 1976).

9. Например, геномный анализ всех видов и форм пшеницы, ее диких и культурных сородичей по белкам-маркерам дал возможность установить следующее (В.Г.Конарев, Дорофеев, Гаврилюк, Губарева, А.В.Конарев, Пенева, Хакимова, Мигушова, 1970-1976).

Геном А полиплоидных пшениц неоднороден. У пшениц ряда *T.timopheevii* он близок геному *T.boeoticum* и *T.monococcum* ( $A^b$ ), у пшениц ряда *T.turgidum* и *T.aestivum* – однозернянке *T.urartu* ( $A^u$ ).

Геном G – второй геном пшениц ряда *T.timopheevii*, гомологичен геному *Ae.speltoides* – одного из видов секции *Sitopsis*. Он обозначен нами



как геном В<sup>sp</sup>. Второй геном пшениц ряда *T.turgidum* и *T.aestivum* близок геному другого вида этой секции – *Ae.longissima* (В<sup>1</sup>).

Подтверждено сложившееся представление о том, что донорами генома D гексаплоидных пшениц ряда *T.aestivum* были представители *Ae.squarrosa*. Показано, что наиболее вероятные источники этого генома – представители подвида *strangulata* (D<sup>str</sup>).

Изучена внутривидовая дифференциация диплоидных носителей геномов А, В и D, природные популяции их биотипов и филогенетические отношения между геномами, что способствовало более глубокому пониманию путей происхождения современных форм полиплоидной пшеницы и ее культурных видов.

Установлено, что один и тот же геном у разных видов и форм полиплоидной пшеницы представлен неодинаково. Это лежит в основе генетических различий между видами в пределах эволюционного ряда пшеницы и между биотипами и сортами в пределах вида.

Выявлена связь ряда хозяйственно ценных признаков с отдельными геномами и их разновидностями. В частности, с геномом А<sup>b</sup> связаны высокое содержание белка в зерне при повышенном содержании лизина в белке, а также устойчивость к ряду грибных заболеваний (Конарев, 1973; Тютюрев и др., 1973; Кривченко, Ямалеев, 1974-1976). Как известно, с геномом D связаны хлебопекарные качества муки мягкой пшеницы.

На анеуплоидных линиях, линиях с дополненными и замещенными хромосомами и тетраплоидных производных сортов мягкой пшеницы изучен генетический контроль ряда маркерных белков, в том числе глиаина и геномспецифичных белков типа альбуминов (Конарев, Гаврилюк, Губарева, Бушук, 1972; Митрофанова, Ригин, Конарев, 1975, 1976).

Подтвержден ранее установленный факт (Шеферд и Ригли, 1968, 1973), что компоненты  $\alpha$  и  $\beta$  глиаина контролируются 6-й гомеологической группой, компоненты  $\omega$ - и подавляющая часть гамма-глиадинов находятся под контролем 1-й гомеологической группы хромосом.

Изучена закономерность наследования отдельных компонентов глиаина в гибридных поколениях при скрещивании сортов мягкой пшеницы. На основе сортовой специфичности спектра компонентов глиаина, результатов изучения наследования глиаина в гибридном потомстве от скрещивания сортов мягкой пшеницы, а также данных, полученных на линиях с дополненными и замещенными хромосомами по

1-й гомеологической группе, сделано заключение о сортовом полиморфизме хромосом. Установлено, что в процессе развития зерновки в первую очередь синтезируются белки, общие для всех трех геномов пшеницы. Геномспецифичные альбумины, глобулины и компоненты глютеина и глиаина возникают в фазу налива. Последними образуются “медленные” компоненты  $\omega$ -глиаина и соответствующие им структурные элементы глютеина, контролируемые геномом D (Шаяхметов, Павлов, Колесник, Конарев, 1974, 1975).

10. На основе сравнительного изучения состава электрофоретических компонентов проламина пшеницы, ржи, ячменя, овса и их диких сородичей (эгилопсы, пыреи) создан эталонный спектр и разработан принципиально новый способ регистрации генетических ресурсов пшеницы, ячменя, овса и других злаков в виде белковых формул генотипа сортов, биотипов, линий и мутантов.

Информация, заключенная в “белковых формулах”, облегчает поиск генотипов, несущих хозяйственно ценные признаки, и позволяет с первых этапов селекции осуществлять контроль за включением желаемых генетических структур в создаваемые сорта и линии. На симпозиуме ФАО (Ленинград, 1975) предложенный принцип признан как прогрессивный и намечен к внедрению по линии ФАО. Сейчас лаборатория белка и нуклеиновых кислот совместно с отделами растительных ресурсов ВИР и другими научными и опытными учреждениями страны составляют каталоги сортовых формул пшеницы, ячменя, овса и тритикале. В ближайшие годы будет записан весь генофонд этих культур, включая диких сородичей и синтетические амфидиплоиды.

11. Геномный и генетический анализ пшеницы и других сельскохозяйственных растений, а также их диких сородичей по белкам-маркерам показал, что методы белковых маркеров позволяют устанавливать происхождение культурных растений, оценивать их генетическую структуру, идентифицировать виды, сорта, выявлять линии и мутанты, не имеющие морфологических различий, осуществлять регистрацию генетических ресурсов культурных растений по белкам-маркерам и производить молекулярно-генетический анализ исходного и селекционного материала в связи с селекцией на качество урожая и другие хозяйственно ценные признаки. В частности, геномный анализ и идентификация генотипов по белкам-маркерам дают возможность осуществлять рациональный поиск доноров хозяйственно ценных

признаков в мировой коллекции и контролировать включение их в создаваемые сорта, гибриды и амфидиплоиды.

Возможность анализа на одном зерне с сохранением их жизнеспособности позволяет уже в первых генерациях по отдельным зернам определять геномный состав и степень проявления геномов при отдаленной гибридизации, оценивать генотип растения и степень отклонения его в сторону одного из родителей при межсортовой гибридизации, выделять в гибридных поколениях формы и линии с заданной структурой генотипа, несущей хозяйственно ценные признаки, и определять перспективность дальнейшей работы с имеющимся исходным и селекционным материалом.

Все это дает основание считать, что методы, основанные на принципе белковых маркеров, открывают новые перспективы развитию селекции и семеноводства и будут способствовать дальнейшему повышению эффективности селекции.

12. Одним из весьма важных практических мероприятий, вытекающих из результатов разработки принципа белковых маркеров, является возможность создания единой системы регистрации мировых генетических ресурсов культурных растений и их диких сородичей в виде “белковых формул генотипа” существующих сортов, биотипов, линий и мутантов. Сейчас важно в первую очередь организовать работы по регистрации районированных сортов пшеницы и ячменя, а также стародавних сортов и сортов народной селекции с целью сохранения сортового фонда для селекции. Особое внимание должно быть уделено регистрации генотипов культурных растений и их диких сородичей, несущих хозяйственно ценные признаки и представляющих интерес для селекции.

13. Белковые маркеры могут быть использованы в решении ряда практических вопросов селекции и семеноводства, а именно:

– в поисках источников хозяйственно ценных признаков в мировой коллекции культурных растений и их диких сородичей;

– в осуществлении контроля за включением желаемых генетических структур при селекции на сложные признаки, не имеющие морфологических маркеров и связанные с отдельными геномами, например содержание и качество белка, свойства клейковины, хлебопекарные качества, устойчивость к болезням и неблагоприятным факторам среды;

– в оценке геномного состава исходного материала и отборе в процессе селекции методом отдаленной гибридизации (пшеница, овес, тритикале, картофель, подсолнечник, хлопчатник и др.), например при вовлечении в селекцию пшеницы и тритикале генома  $A^b$  (от *T.boeoticum* или *T.monococcum*), являющегося донором высокого содержания белка и лизина и устойчивости к ряду грибных заболеваний (возможность включения генома  $A^b$  в генотипы перспективных сортов твердой и мягкой пшеницы и сопутствующий ему эффект были показаны Т.Я. Зарубайло, Э.В. Тавриным и Н.К. Губаревой, 1973);

– в создании сортов синтетиков, многолинейных сортов-популяций, в работах по выделению и регистрации линий, несущих признаки устойчивости к расам возбудителей болезни, высоких качеств зерна; в подборе благоприятного состава и соотношения линий для формирования многолинейных сортов с заданными признаками; в осуществлении контроля за составом и соотношением линий в семеноводстве многолинейных сортов;

– в изучении динамики популяций сортов перекрестноопыляющихся культур в процессе семеноводства (рожь, подсолнечник);

– в работах по созданию вспомогательных генетических систем для селекции пшеницы на основе анеуплоидных линий;

– для осуществления отбора линий с транслокациями хромосом по отдельным геномам в селекции амфидиплоидов (например, вторичных тритикале);

– в поисках спонтанных и индуцированных мутантов по белку и другим хозяйственно ценным признакам, не имеющим морфологических маркеров; для контроля за включением полезных признаков мутантов в генотипы создаваемых сортов и линий ячменя, кукурузы и других с использованием электрофоретического теста на зеин (Опак-2, Флаури-2, амилозо-экстендер, сахарная, восковидная и др. эндоспермальные мутанты кукурузы), электрофоретического теста на гордеин (“Хайпроли”, “1508” и др. мутанты ячменя), серологические тесты на отдельные белки в селекции бобовых (Конарев, Перуанский, Рубченя, 1969, 1970; Ямалева, Киссель, 1973; Гаврилюк, 1973-1975);

– в селекции гороха, сои и других зернобобовых на благоприятное соотношение отдельных белков, определяющих питательную ценность семян (вицилин, легумин), а также на устранение антипитательных белков типа лектинов и ингибиторов ферментов (И.П.Гаврилюк, 1975).

14. В практике работы Госкомиссии по сортоиспытанию сельскохозяйственных культур для определения оригинальности сорта и степени его чистоты может быть использован метод сортовой идентификации по формулам глиаина (Конарев, Гаврилюк, Губарева, 1972, авторское свидетельство № 517271).

В практике работы лаборатории Государственного семенного контроля может быть использован серологический метод для обнаружения в семенах основной культуры примеси семян других видов, для выявления засоренности семян твердой пшеницы семенами мягкой, для различения фатуоидов и овсюгов, для определения подлинности и чистоты трудноразличимых семян бобовых и крестоцветных.

15. Метод белковых маркеров оказался весьма полезен для идентификации геномов и видов картофеля в связи с использованием его диких форм в селекции, а также для оценки чистоты и однородности клубневого материала в семеноводстве. В этом направлении уже получены существенные результаты (Букасов, Григорьева, Гаврилюк, Конарев, 1969, 1973, 1974).

16. Серологический тест на белки позволил особым образом решить одну из актуальных задач – диагностику повреждения зерна и муки клопом-черепашкой (Гаврилюк, Конарев, Шапиро, Вилкова, Семенова, Литвинов, 1973, авторское свидетельство № 477627). Как известно, “укус” этого вредителя сопровождается повреждением клейковины и резким ухудшением хлебопекарного качества муки. Мы получили сыворотку на белки слюнной железы клопа-черепашки, а также других сосущих вредителей. Сыворотка оказалась способной выявлять указанные выше повреждения. Метод выявления быстр и точен. Он, несомненно, будет полезен заготовительным организациям и лабораториям пищевой промышленности. Метод интересен еще и тем, что позволяет определять вид вредителя и оценивать видовой состав сосущих вредителей в партиях поврежденного зерна и муки из разных районов репродукции с целью прогнозирования распространения отдельных видов вредителя. Значение метода видно хотя бы из того, что он дает возможность точно определять, повреждено зерно вредной черепашкой (за что снижается закупочная цена на 40%) или другими клопами (ягодной, травяной или остроплечей черепашками).

17. Можно было бы привести и другие примеры практического использования методов белковых маркеров в селекции и семеноводстве. Как видно, эти методы могут быть использованы в сочетании с любыми

методами селекции и на всех этапах селекционного процесса – от поиска источников хозяйственно ценных признаков до регистрации получаемых сортов, сортоиспытания и далее – семеноводства, сортового контроля и качества продукции заготовительными и другими организациями и учреждениями.

Можно с уверенностью сказать, что принцип белковых маркеров в настоящее время в большей мере, чем какие-либо другие, связывает между собой области фундаментальной молекулярной биологии и генетики с актуальными проблемами растениеводства.

18. Сейчас наметились также другие пути анализа геномов – по белкам хромосом, по кинетике реассоциации полинуклеотидных цепей гомологичных и гетерологичных молекул ДНК и РНК, по структурному состоянию и функциональной активности генома. Эти пути еще не нашли такого практического использования, но заключают в себе большие возможности для разработки совершенных и эффективных методов оценки генома и генетических систем (Конарев, 1973, 1974, 1976; Конарев, Гаврилюк, Сидорова, Ямалеева, 1972; Конарев, Тютюрев, Алексеев, 1973; Махлаева, 1973; Конарев, Ахметов, Гилязетдинов, 1971-1976).

19. В целях внедрения методов белковых маркеров в селекцию и семеноводство ВИР провел в 1971-1975 гг. по соответствующим темам три методических семинара биохимиков, генетиков и селекционеров из учреждений ВАСХНИЛ и АН СССР (в том числе селекцентров, лабораторий госсортосети и кафедр институтов и университетов). Ежегодно при лаборатории белка и нуклеиновых кислот ВИР методы геномного и генетического анализа исходного и селекционного материала по белкам-маркерам осваивают 25-30 стажеров от биохимических лабораторий, обслуживающих селекцию и семеноводство. На I кв. 1977 г. намечен 4-й Методический семинар, который будет посвящен сортовой идентификации и регистрации генетических ресурсов по белкам-маркерам. Изданы методы идентификации и регистрации сортов пшеницы и ячменя и первые каталоги белковых формул районированных сортов этих культур.

20. Необходимо дальнейшее развитие исследований по молекулярно-генетическим основам селекции и семеноводства сельскохозяйственных культур и особенно по таким вопросам как:

– эволюция культурных растений, природа и происхождение их геномов;

– генетический контроль таких хозяйственно ценных признаков, как содержание и питательная ценность белков зерна, хлебопекарные и

макаронные качества мягкой и твердой пшениц, устойчивость растений к болезням и неблагоприятным факторам среды и т.д.;

– развитие принципа белковых маркеров и поиск новых возможностей маркирования геномов, отдельных хромосом и других генетических систем, контролирующих хозяйственно ценные признаки и свойства растений.

21. Одним из важнейших условий осуществления перечисленных выше исследований является усиление подготовки научных кадров по биохимии и генетике растений и, особенно в области биохимии и генетики растительных белков.

## 2. ИЗ ПОСТАНОВЛЕНИЯ

Бюро Президиума Всесоюзной Академии сельскохозяйственных наук им.  
В. И. Ленина (17 февраля 1977 г.)

Использование белковых маркеров в анализе исходного и селекционного материала, сортовой идентификации и регистрации генетических ресурсов культурных растений и их диких сородичей

1. Отметить значительную работу, проведенную Всесоюзным НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова, Всесоюзным селекционно-генетическим институтом и Институтом зоологии и ботаники АН Эстонской ССР по изучению природы, специфичности и генетики растительных белков, а также выявлению белковых маркеров для идентификации видов, сортов, биотипов, хромосом, генов и их аллелей и использованию их в работе по филогении растений, генетике, селекции и семеноводству с.-х. культур.

2. Всесоюзному НИИ растениеводства им. Н. И. Вавилова (акад. Брежнев Д. Д., чл.-кор. Конарев В. Г.) обеспечить дальнейшее развитие работ по изучению структурной и функциональной организации генетического аппарата в связи с проблемами эволюции и генетики культурных растений, подбору белковых маркеров для геномного и генетического анализа основных групп сельскохозяйственных растений и в первую очередь для пшеницы, ячменя, ржи, кормовых культур (люцерна, клевер) и других.

Ускорить работы по созданию единой системы регистрации генетических ресурсов пшеницы, ячменя и других злаков в виде “белковых формул”.

5. Отделению растениеводства и селекции (акад. Турбин Н.В.), Отделу научного оборудования и технологического снабжения (т. Виноградов Б.Т.), совместно с институтом (ВИР, ВСГИ), в МЕСЯЧНЫЙ СРОК определить перечень необходимого лабораторного оборудования и реактивов отечественного и импортного производства для развития исследований по биохимической генетике и обеспечить указанным оборудованием и реактивами соответствующие лаборатории ВИРа и ВСГИ в 1977-1978 гг.

П.п. Президент ВАСХНИЛ

академик

Главный ученый секретарь

Президиума Академии

академик

П. ЛОБАНОВ

Г. МУРОМЦЕВ

3. ПРЕДЛОЖЕНИЯ



## от Комиссии Президиума ВАСХНИЛ

по внедрению комплекса методов белковых маркеров селекцию и семеноводство зерновых, зернобобовых, масличных, технических, овощных и других культур и дальнейшему развитию научных исследований в области биохимической генетики культурных растений и их диких сородичей (17 февраля 1977 г.)

В последние годы в СССР ведутся интенсивные исследования в области природы, биологической специфичности и генетики растительных белков. В этом же плане ведутся широкие исследования в США, Канаде, Японии, Франции, Австралии, Швеции, ГДР, ЧССР и ряде других стран. Результаты этих исследований находят все более широкое применение в решении актуальных вопросов происхождения, эволюции и генетики растений, а также селекционной практике.

Специфичность белков успешно используется для определения филогенетических отношений между видами, идентификации видов и выявления внутривидового полиморфизма, в поисках хозяйственно ценных мутантов, не имеющих морфологических различий, и других исследованиях.

В СССР в основном широкие работы в этом плане проводятся во Всесоюзном институте растениеводства им. Н. И. Вавилова (В. Г. Конарев, И. П. Гаврилюк, Н. К. Губарева, В. В. Сидорова) в связи с разработкой проблем филогении, систематики, генетики культурных растений и их диких сородичей и изучением мировых растительных ресурсов и использованием их в селекции, в Академии наук ЭССР (В. Э. Яаска) по филогении и эволюции пшениц, во Всесоюзном селекционно-генетическом институте (А. А. Созинов, Ф. А. Попереля) в связи с изучением наследования отдельных белков в гибридном потомстве, поиском корреляций между составом белков и хозяйственно ценными признаками растений и совершенствованием методов анализа, а в Институте прикладной молекулярной биологии и генетики (А. Б. Вакар) в связи с изучением качества клейковины.

Во Всесоюзном институте растениеводства им. Н.И. Вавилова под руководством В.Г. Конарева за последние 9 лет изучены белки семян и вегетативных органов многих тысяч образцов злаков, бобовых, кукурузы, картофеля и других культур. Для идентификации белков впервые в мире использовано сочетание биохимических и серологических методов

анализа. Все это позволило установить, что специфичность разных групп белков проявляется на разных уровнях таксонов: одни белки специфичны на уровне высших таксонов, другие – на уровне рода, вида, подвида и т.д. На основе этих исследований, разработан принципиально новый подход к использованию белков как генетических маркеров, позволяющий подбирать для маркирования рода, вида, генома и т. д. совершенно определенные, наиболее подходящие для этой цели белки.

К настоящему времени лаборатория белка и нуклеиновых кислот ВИР располагает набором маркерных белков разных уровней специфичности для отдельных культур, используемых для идентификации родов, видов, уточнения их геномного состава, поиска геномов, контролируемых ценные для селекции признаки, и других целей. В частности, при их использовании выявлена разнокачественность генома А у пшеницы, установлено, что геном  $A^b$ , происходящий от *T.boeoticum*, обуславливает более высокое содержание белка в зерне при повышенном содержании лизина в белке. Белковые маркеры этого генома использованы для выявления его у существующих видов пшеницы, а также для контроля за включением во вновь создаваемые амфидиплоиды, в частности Тритикале и другие гибриды в процессе селекции.

Лабораторией белка и нуклеиновых кислот ВИР в 1969 г. на основе изучения глиадинов видового разнообразия пшеницы и ее диких сородичей создан эталонный спектр глиадина, включающий всевозможные позиции компонентов глиадина и позволяющий записать в виде белковой формулы состав глиадина, специфичный для сорта, линии, биотипа (авторское свидетельство № 507271, 1972 г.).

При этом предложена номенклатура компонентов для всех фракций глиадина в соответствии с делением его на фракции по Войчику (1961, США), что дает возможность точно указать место положения каждого компонента в спектре. Этот метод более совершенный и универсальный в сравнении с предложенными французскими (1973 г.) и австралийскими (1974 г.) исследователями.

Запись сортов в виде формул удобна для хранения информации и обработки ее на компьютерах. Такой способ регистрации сортов признан прогрессивным и перспективным для создания единой системы регистрации генетических ресурсов пшеницы на симпозиуме ФАО в 1975 году. К настоящему времени в виде белковых формул записано около 3000 образцов пшеницы, эгилопсов, ячменя и тритикале.

Исследования сотрудников лаборатории белка и нуклеиновых кислот ВИР по бобовым, картофелю и другим культурам, проведенные совместно с отделами растительных ресурсов и генетики, позволили внести ряд существенных уточнений в вопросы филогении и систематики этих культур. Результаты этих работ докладывались и получили высокую оценку на всесоюзных и международных совещаниях, в том числе на XII Международном ботаническом конгрессе.

Работы, проводимые лабораторией белка и нуклеиновых кислот по разработке молекулярно-биологических основ морфогенеза культурных растений в тесном контакте с отделами растительных ресурсов и генетики ВИР, лабораториями и кафедрами ряда институтов и университетов (Ленинградский, Башкирский университеты, ВИЗР, Институт физиологии растений АН СССР и др.), представляют собой дальнейшее развитие учения Н.И.Вавилова и основного направления работ ВИР и позволяют перейти на новый, более совершенный уровень в изучении мировых растительных ресурсов.

В частности, разработанные в лаборатории модификации электрофоретических и серологических методов выявления белковых маркеров позволяют проводить массовую оценку исходного и селекционного материала, не требуют сложного оборудования и могут быть использованы селекционерами и другими селекционно-опытными учреждениями и институтами в условиях биохимических лабораторий, обслуживающих селекционный процесс. Например: для идентификации и регистрации сортов, линий и мутантов по спектру проламинов; быстрого серологического обнаружения засоренности зерна твердой пшеницы зерном мягкой; определения подлинности и чистоты трудноразличимых по морфологическим признакам семян бобовых и крестоцветных, а также для определения поврежденности зерна и муки сосущими вредителями по методу, разработанному совместно с ВИЗР и Одесским технологическим институтом пищевой промышленности (авторское свидетельство № 487627, 1973 г.).

Комиссия отмечает, что методы, основанные на принципе белковых маркеров, не только имеют важное теоретическое значение, но и открывают новые перспективы развития и дальнейшего повышения эффективности селекции.

Комиссия считает, что для более широкого внедрения этих методов в селекцию и семеноводство, а также дальнейшего развития исследований в

области прикладной молекулярной биологии и генетики культурных растений, необходимо осуществить следующие мероприятия.

1. На основе метода сортовой идентификации по белкам зерна принять единую систему регистрации мировых растительных ресурсов культурных растений и их диких сородичей в виде “белковых формул”.

2. Всесоюзному институту растениеводства им. Н.И. Вавилова обеспечить первоочередную регистрацию отечественных и зарубежных сортов пшеницы, тритикале и ячменя, а также стародавних сортов народной селекции этих и других зерновых культур с целью сохранения генофонда культурных растений. Особое внимание при этом уделить регистрации генотипов культурных растений и их диких сородичей, обладающих ценными в селекционном отношении признаками.

3. Обеспечить широкое использование белковых маркеров в практической деятельности селекционных центров, научно-исследовательских институтов и других организаций по селекции и семеноводству, в том числе:

- при поисках источников хозяйственно ценных признаков в мировой коллекции культурных растений и их диких сородичей;

- для осуществления контроля за включением желаемых генетических структур при селекции по сложным признакам, не имеющим морфологических маркеров и связанным с отдельными геномами (содержание и качество белка, свойства клейковины, хлебопекарные качества, устойчивость к болезням, вредителям и неблагоприятным факторам среды);

- при оценке геномного состава исходного материала и отборов в селекционном процессе с использованием методов отдаленной гибридизации (пшеница, рожь, овес, картофель, подсолнечник, хлопчатник и др.);

- в практике работы Государственной комиссии по сортоиспытанию для определения оригинальности и новизны вновь создаваемых сортов, по контролю чистоты партий сортовых семян, проведении экспертизы зерна.

4. Считать перспективным использование белковых маркеров в создании сортов-синтетиков, многолинейных сортов-популяций, многолинейных сортов на основе изогенных линий в связи с селекцией на иммунитет и качество зерна; в работах по выделению и регистрации линий, несущих признаки устойчивости к расам возбудителей болезни, высокие качества зерна и не имеющих морфологических маркеров; в подборе благоприятного состава и соотношения линий для формирования

многолинейных сортов с заданными признаками; в осуществлении контроля за составом и соотношением линий в семеноводстве многолинейных сортов.

5. Рекомендовать использование белковых маркеров:

– при изучении динамики популяций сортов перекрестноопыляющихся культур в процессе семеноводства (рожь, подсолнечник и др.);

– в работах по созданию вспомогательных генетических систем для селекции пшеницы на основе анеуплоидных линий (линий с дополненными и замещенными хромосомами от других сортов и видов растений и др.);

– для осуществления отбора линий с транслокациями хромосом по отдельным геномам в селекции амфидиплоидов;

– при генетической оценке однородности исходного материала для мутационной селекции и поиске спонтанных и индуцированных мутантов по белку и другим хозяйственно ценным признакам, не имеющим морфологических маркеров;

– для контроля за включением признаков мутантов в генотипы создаваемых линий и сортов ячменя, кукурузы и других культур, в том числе электрофоретического теста на зеин в селекции кукурузы с привлечением эндоспермальных мутантов (Опак-2, Флаури-2, амилаза-экстендер, сахарная, восковидная и др.), электрофоретического теста на гордеин в селекции ячменя на лизин с привлечением мутантов типа “Хайпроли” и “1508”, серологические тесты на отдельные белки в селекции бобовых.

6. В связи с проблемой увеличения производства белка и улучшения его качества считать необходимым усилить селекцию гороха, сои и других зернобобовых на благоприятное соотношение содержания отдельных белков, определяющих питательную ценность семян (вицилин, легумин), а также устранение антипитательных белковых компонентов типа лектинов и ингибиторов ферментов.

Рекомендовать Всесоюзному НИИ зернобобовых культур и селекционным центрам использовать разработанные в ВИР иммунохимические экспресс-методы.

Для постановки указанных выше работ в селекцентрах, ВИРу организовать централизованное производство моноспецифических сывороток на 11S и 7S белки, лектины и ингибиторы ферментов.

7. Рекомендовать Госкомиссии по сортоиспытанию сельскохозяйственных культур при проведении грунт-контроля использовать для определения оригинальности сорта и степени его чистоты дополнительно метод сортовой идентификации по формулам глиадины. Внести данный способ в проект ГОСТа по контролю качества семян.

Просить Министерство сельского хозяйства СССР организовать через объединение “Агроприбор” производство комплекта оборудования, а именно: источник питания, прибор для электрофореза, штатив со скользящей шкалой для записи электрофоретического спектра, набор реактивов для электрофореза в ПААГ и оснастить ими контрольно-семенные лаборатории, сортоиспытательные участки, где будут проводиться эти работы.

8. Считать целесообразным использование в практике работы лабораторий Государственного семенного контроля серологических методов обнаружения в семенах основной культуры примесей семян других видов, обратив особое внимание на выявление засоренности семян твердой пшеницы семенами мягкой и определение подлинности и чистоты трудноразличимых семян бобовых и крестоцветных.

9. Рекомендовать заготовительным организациям, лабораториям пищевой промышленности и учреждениям по защите растений использовать серологический метод для определения поврежденности зерна и муки пшеницы сосущими вредителями и вида вредителя (авторское свидетельство №487627, 1973 г.), а также для установления ареала и прогнозирования распространения видов вредителей.

10. В целях дальнейшего развития фундаментальных исследований по молекулярно-генетическим основам селекции и семеноводства сельскохозяйственных культур считать необходимым обеспечить разработку следующих основных вопросов:

- закономерность эволюции культурных растений, природу и происхождение их геномов;

- генетический контроль хозяйственно ценных признаков (содержание и питательная ценность белков зерна, хлебопекарные и макаронные качества пшеницы, устойчивость растений к неблагоприятным факторам среды и др.);

- развитие принципа белковых маркеров и поиск новых возможностей маркирования геномов, отдельных хромосом и других

генетических систем, контролирующих хозяйственно ценные признаки и свойства растения.

11. Усилить подготовку научных кадров по биохимии и генетике растений через аспирантуру, уделив особое внимание подготовке специалистов в области биохимии и генетики растительных белков.

12. Поручить ВИР подготовить и издать:

– рекомендации по применению методов белковых маркеров в селекции и семеноводстве (I кв. 1977 г.);

– руководство “Принцип белковых маркеров и его использование в селекции и семеноводстве” (1978 г.);

– каталоги белковых формул сортов, биотипов и линий, выделившихся из мировой коллекции пшеницы, ячменя и тритикале (1976-1977 г.).

13. Рекомендовать ВИР при издании “Культурной флоры” наряду с морфологической, биологической и другими характеристиками характеризовать виды и другие таксоны по белковым маркерам.

14. Организовать в 1977 г. в ВИР стажировку специалистов по освоению методов, разработанных на основе принципа белковых маркеров геномов.

15. Просить ВАСХНИЛ выделять ежегодно ВИР 2-3 места в целевую аспирантуру для подготовки специалистов в области биохимии и генетики растительных белков.

Председатель комиссии: акад. А.В.Пухальский (ВАСХНИЛ).

Члены комиссии: проф. Т.С. Фадеева (ЛГУ), проф. А.Я. Трофимовская (ВИР), проф. Т.Я. Зарубайло (ВИР), проф. В.Ф. Дорофеев (ВИР), канд. биол. наук А.Ф. Стельмах (ВСГИ), канд. биол. наук В.К. Щербаков (МОВИР), канд.с.-х. наук Н.И. Блохин (Мироновский НИИ селекции и семеноводства пшеницы).

23 сентября 1976 г.

#### 4. «СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ БИОХИМИИ В АНАЛИЗЕ ПОПУЛЯЦИЙ»

В. Г. Конарев

(Тезисы доклада на отчетно-плановой сессии ВИР,  
февраль, 1978 г.)

1. Год тому назад на отчетно-плановой сессии Института, затем на Бюро Президиума ВАСХНИЛ я докладывал об итогах разработки принципа белковых маркеров. В этих докладах и ряде публикаций мы показали, что белковые маркеры позволяют объективно и точно определять родовую и видовую принадлежность растений, осуществлять филогенетический и генетический анализ, идентифицировать сорта и регистрировать генетические ресурсы культурных растений в виде «белковых формул» биотипов и линий.

В этом докладе я хотел бы рассмотреть вопрос о возможности использования белковых маркеров в анализе популяций и раскрытии внутривидовой дифференциации культурных растений и их диких сородичей.

2. Почти 60 лет тому назад Н. И. Вавилов писал: «Еще долгое время будет идти процесс дифференциации линнеонов (видов); он неизбежен и необходим для учета форм, существующих в природе, во-первых, чтобы иметь реальное представление о составе растительного мира, во-вторых, чтобы наметить пути, по которым должна пойти творческая работа человека в создании новых форм». При этом Н. И. Вавилов считал, что будущее в этом принадлежит «дифференциальной систематике на основе биохимических и физиологических отличий в пределах вида».

3. Сейчас особенно важно понять структуру вида, его дифференциацию с генетической точки зрения.

В современном представлении вид включает в себе большой взаимосвязанный генетический фонд. Носители его – особи вида – имеют общую, сложившуюся в ходе эволюции генетическую программу. Для каждого вида характерны пределы генетической изменчивости, которые соответствуют «границам» вида как репродуктивного сообщества.

Элементарная единица генетической структуры популяции – биотип. Это – группа генетически идентичных или близких по генотипу особей.

4. Наиболее важной для характеристики популяции является генетическая изменчивость, которая проявляется в наличии нескольких



или многих различных дискретных фенотипов. Эта внутривидовая изменчивость получила название *полиморфизма*. Изучение полиморфизма любыми методами ведет к *генетике популяций*.

Генетическую основу полиморфизма составляет наличие в популяции факторов с дискретным фенотипическим эффектом. Полиморфизм по ряду признаков контролируется большой серией множественных аллелей гена. Часто, однако, генетическому локусу соответствует лишь два альтернативных типа (диморфизм). Один из двух аллелей может оказаться редким, тогда контролируемый геном признак проявляется как *мономорфный*.

5. Как создается генетический фонд вида и каковы источники генетической изменчивости в популяциях?

Основные источники: обмен генами между популяциями (поток генов), рекомбинации, интрогрессии (поступление генов от соседних видов при межвидовых скрещиваниях), мутации по регуляторным (реже по структурным) генам.

6. Популяции содержат большой запас генетической изменчивости, однако значительная часть ее не имеет четкого фенотипического выражения в морфологических или иных внешне различимых признаках. Эта часть составляет *скрытый запас генетической изменчивости*. Он складывается: за счет рецессивности генетических факторов (при межаллельном взаимодействии), подавления фенотипического эффекта в явлениях супрессии (при эпистатических взаимодействиях), плейотропии гена, существования изоаллелей и др.

Скрытые запасы генетической изменчивости особенно велики у популяций и видов со сложной амфидиплоидной структурой.

7. Каковы пути выявления скрытой генетической изменчивости?

Обычную скрытую изменчивость, например, по линии рецессивных аллелей, выявляют посредством инбридинга и изучения потомства  $F_2$ . Эти методы, однако, трудоемки и имеют ряд ограничений. Давно идет поиск таких методов, которые позволили бы производить *непосредственный анализ фенотипа без скрещиваний*. Определенные успехи в этом направлении достигнуты в медицинской генетике, использующей группы крови и дифференциальное окрашивание хромосом по Касперсону.

8. Принципиально новые возможности анализа популяций открывает биохимия и генетика белка. В этом отношении интерес представляет *полиморфизм белка*, который хорошо выявляется электрофорезом,

изоэлектрофокусированием и другими методами и, которые все более широко используются в анализе популяций.

9. Сущность полиморфизма белка и пути его возникновения.

Полиморфизм, мономорфизм и множественность белков, использование их в качестве маркеров геномов, генотипов и хромосом.

10. Полиморфизм и множественность компонентов проламина злаков. Электрофоретические спектры глиаина пшеницы, ржи, эгилопсов и гордеина ячменя.

Номенклатура фракций и компонентов глиаина. Эталонный спектр. Запись сортов, биотипов и линий по спектру глиаина. Регистрация генетических ресурсов злаков в виде белковых формул сортов, биотипов и линий. Информация, заключенная в белковых формулах.

11. Оценка генетической однородности и регистрация биотипов по спектру глиаина у сортов самоопыляющихся растений на примере пшеницы (Кавказ, Краснодарская 39 и др.).

12. Выявление и регистрация полиморфизма сортов перекрестноопыляющихся растений по спектру глиаина на примере сортов ржи.

13. Анализ популяций по спектру компонентов полиморфного и множественного белка позволяет развернуть вид до биотипов – элементарных единиц генетической структуры популяций. Такой анализ дает представление не только о составе популяций, но и о степени близости между биотипами внутри популяции и степени близости популяций и видов по линии отдельных компонентов белка.

14. Анализ популяций и регистрация биотипов по спектру компонентов белка:

Способствует раскрытию генетического фонда вида и документации его. Дает конкретные сведения о генетической структуре исходного материала и устраняет элементы эмпиризма в селекции. Позволяет вести отбор на желаемые генотипы в гибридных популяциях и осуществлять контроль за включением генетического материала в создаваемые сорта с ранних этапов селекции.

Может быть использован в создании сортов-синтетиков, многолинейных сортов-популяций, в контроле за динамикой популяции сортов перекрестников в процессе семеноводства.

Дает возможность раскрывать истинную родословную сортов-шедевров и регистрировать ценный для селекции материал.

Может быть использован в оценке сортовой чистоты, в контроле чистоты образцов семян Мировой коллекции и т. д.

15. Предстоят большие работы по изучению и регистрации популяций диких видов, являющихся потенциальным источником обогащения генофонда культурных растений. В этой связи возникает проблема методологии сохранения и мобилизации генофонда, заключенного в естественных популяциях. Существующие коллекции представляют собой «интродуценты», заключающие в себе лишь фрагменты генетического фонда диких видов.

16. Напоминаю, что эти работы идут на фоне идентификации видов и геномного анализа с использованием видо- и геномноспецифичных белков-маркеров. Использование белковых маркеров на всех уровнях иерархии от семейства до элементарных единиц генетической структуры популяций позволит наиболее полно раскрыть филогенетические связи в родах и семействах, оценить генетическую структуру вида и его подразделений, осуществить точную и объективную регистрацию видов, популяций и биотипов. Эти работы приведут к созданию рациональной системы растений как научной основы для решения проблем сохранения и эффективного использования растительных ресурсов. Такая система должна более прочно связать эволюционную ботанику, систематику и таксономию с генетикой и селекцией и объединить усилия ботаников, генетиков и селекционеров в работе по созданию новых сортов и форм растений.

6.07.78 г.

## 5. «РАЗРАБОТКА ПРИНЦИПОВ И МЕТОДОВ БЕЛКОВЫХ МАРКЕРОВ И ИХ ВНЕДРЕНИЕ В РАСТЕНИЕВОДСТВО»

В. Г. Конарев

Доклад на Ученом совете Института биохимии  
им. А. Н. Баха (20 мая 1986)<sup>2</sup>

Уважаемый председатель, Уважаемые коллеги

Позвольте мне по поручению моих соавторов сообщить основные сведения о наших работах, представленных сегодня для общественного обсуждения.

*Научное значение работ.* Обсуждаемый цикл работ является результатом многолетних исследований. Они начаты примерно 20 лет тому назад во Всесоюзном институте растениеводства имени Н.И.Вавилова (ВИР, Ленинград). Основанием к постановке таких работ были и остаются актуальные проблемы растениеводства и, прежде всего:

– учет, изучение и сохранение генетических ресурсов для активного использования в селекции,

– раскрытие путей происхождения культурных растений и выявление филогенетических связей их с дикими сородичами – потенциальным источником ценных биологических и хозяйственных признаков для обогащения генофонда современных сортов,

– идентификация вида и генома, геномный анализ аллополиплоидных видов, которые составляют около 80% видов культурных растений,

– раскрытие генетического потенциала вида для селекции.

Существует много специфических проблем селекции и семеноводства. Отметим главное. Самую трудную и сложную работу селекционера, независимо от средств и методов селекции, составляет выявление генетической изменчивости в селекционном материале и отбор желаемых генотипов. Это обусловлено двумя главными причинами: во-первых, фенотипической изменчивостью, пределы которой особенно широки у таких важных признаков, как качество урожая и продуктивность сорта, устойчивость к неблагоприятным факторам, адаптивность, многие формы иммунитета; во-вторых, наличием у сортов, популяций и видов так называемой “скрытой” генетической изменчивости. Она существует за счет различных генетических механизмов, в числе которых рецессивность

---

<sup>2</sup> Доклад печатается с некоторыми сокращениями.

аллелей, плейотропия гена, супрессии в межгенных, межгеномных, геномно-плазмонных и других взаимодействиях. Запасы этой скрытой генетической изменчивости составляют потенциал формообразования вида и популяций и играют исключительно важную роль в эволюции и селекции. Однако в силу сложности обнаружения селекционеру они малодоступны или недоступны. По этой причине генофонд сортов и видов даже хорошо изученных сельскохозяйственных растений используется далеко не полностью.

Давно идут поиски методов, которые позволили бы оценивать генетическую конструкцию организма непосредственно по фенотипу. Наметились разные пути решения этой задачи. Мы тогда избрали методы, основанные на использовании биологической видовой и генетической специфичности и полиморфизма белков, точнее – белковых признаков.

Главной предпосылкой нашим работам был постулат молекулярной биологии (В.Г.Конарев, 1967): белок – первичный и уникальный продукт своей элементарной генетической системы, наилучшим образом отражающий ее специфику. Белковые признаки в наименьшей мере подвержены фенотипической изменчивости; наследуются кодоминантно и позволяют наиболее точно идентифицировать генные локусы. Поскольку гены структурно и функционально строго сопряжены в генетические системы разного уровня сложности, их белки одновременно могут быть маркерами и этих систем.

Наконец, молекула белка как сложная информативная система сама по себе хорошо отражает принадлежность организма биологическому виду. Поэтому белок может быть использован как для маркирования отдельных генетических систем – генов, хромосом, геномов, так и для идентификации видов и оценки межвидовых отношений. Разработка методов белковых маркеров складывалась из:

- изучения структурной и функциональной организации генома растений,
- подбора критериев специфичности белка и способов ее оценки, оценки уровня специфичности белков разного класса, поиска белков с хорошо выраженными маркерными свойствами для маркирования видов, геномов, хромосом и генных локусов,
- изучения генетического контроля маркерных признаков белка,
- выявления возможностей маркирования белками ценных биологических свойств и хозяйственных признаков растения.

В ходе этих исследований сложились два главных принципа маркирования белками генетических систем растений. Один из них основан на использовании антигенной специфичности белка, другой – на специфичности спектра множественных и генетически полиморфных белков. Им соответствуют два типа белковых маркеров – иммунохимические, или серологические, и электрофоретические.

Серологические маркеры хорошо отражают принадлежность растения виду, роду и т.д., что позволяет использовать белки-антигены как биологические, или филогенетические, маркеры. Электрофоретические маркеры дают возможность выявлять внутривидовую (генетическую) изменчивость, идентифицировать сорта, биотипы и линии, различать генотипы в морфологически однородных популяциях.

На основе этих принципов маркирования генетических систем растения разработаны совершенно новые методы биохимического и молекулярно-генетического анализа, в числе которых:

- идентификация генома как генетической системы видовой категории по видоспецифичным белкам-антигенам, геномный анализ естественных и синтетических аллополиплоидов;

- сортовая идентификация растений по электрофоретическим спектрам компонентов множественных и генетически полиморфных белков;

- регистрация и документация генетических ресурсов культурных растений и их диких сородичей в виде “белковых” формул сортов, биотипов и линий;

- маркирование белками генетических систем, ответственных за ценные биологические свойства и хозяйственно важные признаки (экологическую пластичность, морозостойкость, устойчивость к некоторым болезням, качество зерна и общую продуктивность).

Методы белковых маркеров открыли принципиально новые возможности в решении актуальных проблем прикладной ботаники, генетики и селекции. С их помощью авторы раскрыли природу и происхождение геномов многих важных с.-х. растений. Совместно с ботаниками-ресурсоведами уточнили границы ряда спорных видов и стимулировали работы по улучшению системы видов. По белковым маркерам стало возможным оценивать степень генетической совместимости видов и прогнозировать скрещиваемость их, что открывает новые перспективы обогащения генофонда культурных растений за счет привлечения в селекцию их диких сородичей.

Как оказалось, многие задачи генетики, и проблемы современной селекции могут быть решены только с привлечением методов белковых маркеров. В числе этих задач – точная и объективная идентификация видов, сортов и линий, оценка геномного состава аллополиплоидных растений, оценка состава морфологически однородных, сортовых и гибридных популяций, анализ гибридных популяций в первом поколении; оценка гибридности семян в семеноводстве гетерозисных гибридов; выявление чужеродного материала как следствия интрогрессий при отдаленной гибридизации.

*Практическое значение работ.* Методы белковых маркеров могут быть использованы и уже используются в сочетании с любыми методами селекции и на всех этапах селекционного процесса – от поиска источников до сортоиспытания и семеноводства созданных сортов. Включение их в технологический процесс селекции и семеноводства намного сокращает объем полевых работ и сроки выведения сортов, способствует превращению селекции и семеноводства в полностью контролируемый процесс. Это – один из реальных путей развития биотехнологии в растениеводстве.

Белковые маркеры – неотъемлемый элемент клеточной, хромосомной и генной инженерии для маркирования клеточных линий, выявления хромосомных преобразований, идентификации гена или оценки генных функций выделенных или клонированных фрагментов ДНК генома или плазмона.

Сейчас белковые маркеры предусмотрены в селекционных программах многих селекционных центров по многим культурам.

В ВИРе впервые в мировой практике по белкам-маркерам осуществлена регистрация и оценка генофонда видов и популяций, сортов и биотипов пшеницы, ржи, ячменя, овса, тритикале, кукурузы, риса, зерновых бобовых, кормовых трав, подсолнечника, картофеля, свеклы, овощных крестоцветных, плодовых косточковых и других сельскохозяйственных растений и их диких сородичей для создания единой системы учета генофонда, его сохранения и эффективного использования в селекции.

Методы белковых маркеров используются лабораториями Госкомиссии по сортоиспытанию, где в виде белковых формул регистрируются все поступающие на испытание сорта пшеницы с целью определения их оригинальности, однородности и константности (с 1982 года).

В марте 1985 года методы белковых маркеров утверждены МСХ СССР в качестве официальных для контроля подлинности и сортовой чистоты пшеницы и ячменя в системе Государственного семенного контроля. Это позволяет в значительной степени повысить чистоту и, следовательно, качество семенного материала. В перспективе это позволит отказаться от грунт-контроля, что намного сократит объем полевых работ в системе семенного контроля страны.

*Значение работ на международном уровне.* На основе теоретических разработок авторов ведутся исследования по белковым маркерам во многих научных и селекционных учреждениях не только СССР, но и ряда зарубежных стран (Институт растениеводства в Прага-Рузине, ЧССР; Институт растениеводства Венгерской АН, Мартонвашар, ВНР; Институт растениеводства в Фундале, РНР; Институт генетики Польской АН, Познань, и др.).

Интерес к методам белковых маркеров проявил ряд международных организаций, в их числе ФАО, ЭУКАРПИА, международный совет по генетическим ресурсам растений (IBPGR), Международная организация защиты прав селекционера (UPOV), Международная ассоциация контроля качества семян (ISTA). Предложенные ВИРОм методы видовой и сортовой идентификации по белкам-маркерам признаны ими прогрессивными и перспективными для создания единой системы регистрации и документации генетических ресурсов растений и рекомендованы для включения их в международные правила.

В порядке реализации этих рекомендаций мы (Гаврилюк И.П., Губарева Н.К., Конарев В.Г.) приняли активное участие во внедрении методов белковых маркеров в практику международного семенного контроля и в работе по унификации этих методов в международном масштабе. В мае 1985 года (Брауншвейг, ФРГ) международной ассоциацией по контролю качества семян (ISTA) принято предложение Советского Союза о включении методов белковых маркеров в Международные правила анализа семян пшеницы и ячменя. На очереди – горох и кормовые травы (злаки).

Масштабы использования принципов и методов белковых маркеров растут. Растет и круг научных, методических и организационных задач, связанных с включением этих методов в общий технологический процесс селекции и семеноводства.



На решение этих задач, дальнейшее развитие методов белковых маркеров и внедрение их в растениеводство и направлены идеи и обобщения, изложенные в цикле предложенных нами работ.

## 6. РЕКОМЕНДАЦИИ

по использованию белковых маркеров в сорто-  
испытании, семеноводстве и семенном контроле

Составители: И. П. Гаврилюк, М. А. Федин, Н. К. Губарева, П. П. Демкин, Т. А. Микшун, Т. И. Пенева, А. В. Конарев, В. В. Сидорова, Э. Э. Егги, И. Н. Анисимова, А. М. Тарлаковская.

Под редакцией акад. ВАСХНИЛ В. Г. Конарева.

Рекомендации утверждены научно-техническим советом Госагропрома СССР 15 декабря 1988 г., протокол №4(8).

### Введение

Успехи агропромышленного производства в значительной мере определяются внедрением новых высококачественных сортов и гибридов сельскохозяйственных растений, генетически принципиально отличающихся от существующих. Однако реализация их преимуществ возможна только при исключении механического и особенно генетического засорения в процессе семеноводства. Все это делает необходимым введение более строгого контроля оригинальности, константности и чистоты сортов, линий и гибридов на всех этапах селекции, сортоиспытания и семеноводства.

В настоящее время невозможно обеспечить надежность такого контроля, используя только морфологические и физиологические признаки. Назрела необходимость рекомендовать широкое использование белковых признаков, которые принято называть белковыми маркерами [9, 10].

Белок – первичный продукт гена и может маркировать не только ген, но и хромосому, и геном, в которых ген локализован, а также вид, сорт или линию, несущие этот ген. Как правило, маркерами вида служат отдельные белки, характерные для этого вида и отсутствующие у всех других видов. Сорта и линии могут маркироваться как индивидуальными белками, так и группами полипептидов сложного белка, которые называются “спектром белка” и рассматриваются как “отпечатки пальцев” сорта или линии.

Для анализа белков-маркеров используют электрофоретические, иммунохимические и хроматографические методы. Наиболее удобны как маркеры белки семян, в частности запасные белки, которые накапливаются в семенах в большом количестве. Их видовая и сортовая специфичность выявляется с помощью простых вариантов электрофореза и иммунохимии.

В течение многих лет в большинстве научно-исследовательских и селекционных учреждений страны, во многих сельскохозяйственных высших учебных заведениях белковые маркеры используют в селекционной работе и начинают применять в первичном семеноводстве.

В системе государственного сортоиспытания нашей страны методы белковых маркеров применяют для определения оригинальности, гомогенности и константности принятых на испытание и вновь районированных сортов пшеницы и ячменя с 1982 г., других сельскохозяйственных культур с 1988 г. Анализ осуществляют центральная, республиканские и краевые лаборатории Госкомиссии по сортоиспытанию и лаборатории ВИР.

Анализ партий семян на чистоту по линии госсеминаспекций проводят лаборатории научно-исследовательских учреждений. При вновь строящихся крупных семенных заводах планируется организовать специальные небольшие лаборатории.

Включение белковых признаков в число сортовых и использование их для описания и идентификации сортов позволяет надежно контролировать чистоту сорта на всем протяжении его существования – от создания до широкого производственного использования – и тем самым значительно продлевает его жизнь. Одновременно на повестку дня ставится необходимость унификации в использовании белковых маркеров в селекции, сортоиспытании и семеноводстве. Как уже отмечалось, наиболее эффективны как генетические маркеры белки семян. На данном этапе они более доступны стандартизации.

Здесь описаны электрофоретические и иммунохимические методы анализа белков семян, нашедшие наиболее широкое применение в научно-исследовательских учреждениях и рекомендуемые для использования в агропромышленном производстве. Рассмотрены основные принципиально важные этапы и условия проведения анализа, необходимые для получения воспроизводимых результатов при использовании имеющегося сейчас оборудования.

При подготовке рекомендаций учтен многолетний опыт работы биохимической группы Международной ассоциации по контролю качества

семян (ISTA) по подготовке стандартных арбитражных методов электрофореза для Международных правил анализа семян.

Детальное описание методик применения белковых маркеров для отдельных культур и в связи с решением конкретных задач растениеводства дается в “Методических указаниях”, перечень которых приведен в приложении. Многие из них опубликованы (см. список литературы).

В задачу “Рекомендаций” входит обозначить основные пути использования белковых маркеров в решении проблем растениеводства и наметить пути создания унифицированных методов.

### Идентификация и регистрация сортов по белковым маркерам

Имеются существенные различия в подходах к использованию белковых маркеров в идентификации сортов у самоопыляющихся и перекрестноопыляемых сортов сельскохозяйственных культур.

К настоящему времени накопилось достаточно сведений, свидетельствующих о том, что среди сортов-самоопылителей имеются генетически однородные, у которых все растения и все семена характеризуются одинаковыми белковыми признаками (одним типом спектра запасных белков или одинаковым набором аллелей ферментов). Для регистрации такого сорта достаточна запись одного из белковых признаков, чаще это формула запасного белка.

Многие сорта самоопыляющихся культур гетерогенны, у них выявляется несколько биотипов с различными белковыми признаками. Как правило, число биотипов невелико, а их соотношение в сорте очень стабильно. Для таких сортов записывают белковые формулы всех биотипов и частоту их встречаемости.

У перекрестноопыляемых культур внутри одного сорта наблюдается большое число генотипов с различными белковыми признаками. Для характеристики таких сортов по белковым признакам записывается число биотипов, формулы и частота встречаемости основных, наиболее распространенных типов.

Оригинальность сорта оценивают путем сравнения с сортами, зарегистрированными ранее по этим признакам в каталогах ВИР и паспортах Госкомиссии по сортоиспытанию. При обнаружении идентичных по формулам запасных белков однородных сортов должна

быть сделана попытка выявить другие специфичные для этих сортов белковые признаки. Сорто-популяции различают по составу биотипов. Достоверность различий между такими сортами определяют по критерию  $\chi^2$ , рассчитанному при попарном сравнении распределений частот биотипов в стандартных выборках 100 семян [7, 11].

Нередки случаи, когда новые селекционные сорта, обладающие ценными свойствами, не имеют ярко выраженных морфологических отличительных признаков. Проведение специальных скрещиваний для введения нового морфологического признака требует длительного времени и сопряжено с возможностью потери ценных свойств сорта.

Часто такие сорта имеют отличительные белковые признаки. Целесообразно рассмотреть вопрос о признании в этом случае белкового признака сортовым, пригодным для использования как основного при идентификации сорта.

В сортоиспытании при проведении идентификации полевым методом белковые маркеры полезны при решении вопросов о том, какие отклоняющиеся морфологические признаки следует учитывать для признания растений нетипичными.

#### Маркирование инбредных линий и определение гибридности

В современной селекции широко практикуется получение инбредных линий и создание высокопродуктивных гетерозисных гибридов. Как известно, только генетически однородные, чистые линии дают однородные гибриды. Для осуществления контроля за чистотой линий, установления их оригинальности и особенно определения гибридности семян первого поколения крайне недостаточно морфологических признаков. Использование белковых маркеров – в настоящее время единственный путь повышения эффективности гетерозисной селекции.

Для оценки инбредных линий на генетическую однородность рекомендуется производить анализ индивидуальных семян (две выборки по 50 семян). У генетически чистой линии все семена выборки дают один тип спектра запасного белка или имеют одинаковые другие белковые признаки. Наличие семян с другими типами спектра в небольших количествах (до 2%) свидетельствует о засорении линии в результате переопыления или механического загрязнения. При обнаружении в исследуемом образце двух или более равноценных по частоте

встречаемости типов спектра белков должен быть сделан вывод об отсутствии линии как таковой. Это может быть смесь линий или смесь простого межлинейного гибрида с его материнской линией и т.д. Возможно, что инбридинг с самого начала не был обеспечен надежным критерием отбора. Часто отбору недоступны морфологически неразличимые генотипы. В таких случаях с помощью белковых маркеров можно ускорить процесс гомозиготизации линии. Для этого анализ белкового признака проводят на небольшой части эндосперма или семядоли, сохраняя жизнеспособность семян. При посеве используют лишь семена со специфичным для линии белковым признаком.

Следовательно, для описания линии может быть использован один белковый признак, который служит для ее регистрации, установления оригинальности с целью защиты прав селекционера и контроля за сохранением чистоты линий в процессе семеноводства. По опыту ВИР практически все широко используемые инбредные линии кукурузы и подсолнечника имеют специфичные для каждой типы спектров запасного белка, зеина и 11S глобулина соответственно [2, 15].

На практике очень важно иметь отличительные белковые признаки у линии, используемой в качестве отцовской при получении гибридных семян. Такое маркирование отцовских линий открывает принципиально новую возможность в оценке гибридности семян первого поколения. Поскольку для белковых признаков характерно кодоминантное наследование, все семена гибрида первого поколения должны иметь характерные белковые признаки обоих родителей. На практике в партиях гибридных семян нередко обнаруживаются семена с материнским типом белкового спектра (маркерные белковые признаки отцовской линии отсутствуют). Соотношение семян с гибридным и материнским типами спектра указывает на полноту проведенного скрещивания (опыления) родительских линий. При этом, гибридность, выраженная в процентах гибридных семян (число семян с гибридным типом спектра на 100 семян в случайной выборке), может быть критерием прогнозирования урожая от гибридных семян данной партии или основанием для ее выбраковки, если показатель гибридности не очень высок. Преимуществом такого анализа является возможность оценки гибридности до посева. В случае необходимости анализ семян гибридов  $F_1$  может быть проведен до уборки урожая на последних стадиях созревания семян.

## Белковые маркеры в семеноводстве

Белковые маркеры могут быть рекомендованы для использования в различных звеньях фактически всех схем семеноводства. В частности, при первичном отборе исходных лучших растений для передачи в питомники испытания анализируют несколько семян с каждого растения с целью проверки их типичности и отсутствия переопыления, которое может привести к появлению нежелательных сегрегантов в потомстве. При размножении сорта, состоящего из нескольких биотипов, необходимо при отборе исходных растений стремиться сохранить состав и соотношение этих биотипов, характерных для исходного сорта. Для особенно ценных сортов целесообразно раздельное выращивание каждого биотипа.

Особое значение белковые маркеры приобретают в последующих звеньях семеноводства – в питомниках испытания потомств (питомнике отбора и семенном питомнике), где крайне необходим контроль на присутствие необычных типов растений. Когда обнаруживаются нетипичные растения, возникает проблема: действительно ли они отличаются генотипически и могут ли серьезно повлиять на качество сорта. Как правило, морфологически нетипичные растения, имеющие идентичные сорту белковые признаки, возникают за счет различий в микроусловиях выращивания. Такие растения не должны выбраковываться. Отклоняющиеся типы растений, отличающиеся и по белковым признакам, являются продуктом переопыления или механического засорения и должны быть выбракованы. Такой подход значительно повышает эффективность выбраковки семей в питомниках размножения. Кроме того, это позволяет дать более объективные рекомендации по допустимому уровню отклоняющихся типов при апробации семенных посевов последующих репродукций.

Только по белковым маркерам возможен контроль за сохранением состава популяций сортов перекрестноопыляемых растений. Анализ по белкам позволяет на семенах (на один вегетационный период раньше) определить потерю типичности сорта в результате переопыления или механического засорения. Белковые маркеры дают возможность своевременно обнаружить снижение гетерогенности популяций при неблагоприятных условиях выращивания семян, которое ведет к обеднению популяции и вырождению сорта. При выпадении большого числа биотипов и резком изменении состава популяций на любом этапе

семеноводства должен быть поставлен вопрос о целесообразности дальнейшего размножения данной популяции на семена.

Для тех перекрестников, где формирование элиты ведется на основе объединения нескольких компонентов суперэлиты, маркирование последних по белковым признакам создает предпосылки к надежному воспроизводству ценных сортов.

Роль белковых маркеров в контроле чистоты инбредных линий и определении гибридности семян рассмотрена в предыдущем разделе. Простота и надежность определения гибридности по белковым признакам позволяют в ближайшей перспективе отказаться от длительного и трудоемкого грунт-контроля как этапа в семеноводстве межлинейных гибридов.

#### Оценка видовой и сортовой чистоты партий семян по белковым маркерам

Если морфологических признаков целого растения не всегда достаточно для надежной идентификации сорта, то тем более недостаточно морфологических признаков семян для определения подлинности и сортовой чистоты партий семян и товарного зерна. В практике же нередки случаи засорения семян при уборке урожая, последующей обработке и даже при хранении. Тогда показатели сортовой оценки семян, полученные при полевой апробации, могут не совпадать с фактически фиксируемыми после высева этих семян. В связи с этим только тщательная лабораторная оценка партий семян до посева может гарантировать от непроизводительных затрат из-за высева засоренных семян. Арсенал лабораторных методов сортового контроля крайне беден. Практически лабораторный сортовой контроль начинается только с введением в него методов белковых маркеров. При наличии в документах на сорт или линию характеристики по белковым маркерам оценка его сводится к анализу двух случайных выборок по 50 семян на наличие характерных белковых маркеров. Число семян, не имеющих этих маркеров, определяет процент засорения анализируемой партии.

Производство семян некоторых культур сопряжено с большими трудностями по очистке от видовых примесей. Как правило, это семена другой культуры или сорных растений. Так, семена экспортной культуры – чечевицы – нередко бывают засорены семенами чины, вика посевная – семенами дикой вики мохнатой, семена редиса – дикой редькой. В семенах твердой пшеницы, так же как и в товарном зерне, крайне нежелательна

примесь мягкой, поскольку в этом случае в связи с большим коэффициентом размножения семян мягкой пшеницы засоренность семян твердой пшеницы возрастает при репродуцировании. Примесь мягкой пшеницы в товарном зерне резко снижает макаронные качества муки.

В семеноводстве и семенном контроле овса существует проблема фатуоидов, суть которой состоит в следующем. Дикий вид овса – овсюг – злостный сорняк. Примесь его семян в семенах культурного овса служит основанием для запрета на использование таких семян для посева. В то же время нередки случаи появления в посевах овса форм, морфологически промежуточных между культурным овсом и овсюгом. Их называют фатуоидами. Возможно, они являются мутантами. Появление их не вызывает дальнейшего увеличения засоренности. Различение семян овсюга и фатуоидов по морфологическим признакам очень ненадежно. Это приводит иногда к необоснованной браковке партий семян.

Во всех упомянутых случаях и в других, когда примесь принадлежит другому ботаническому виду, она может быть выявлена при определении сортовой чистоты. Однако для этих случаев существует более простой общий прием использования белковых маркеров. Каждый вид характеризуется наличием видоспецифичного белка, выявляемого диагностической сывороткой. Это позволяет использовать такую сыворотку для выявления видовой примеси в семенах всех сортов других видов. Поскольку не так много типов видового засорения встречается в практике, возможно централизованное производство диагностических сывороток на маркеры тех видов, которые встречаются в семенах в качестве видовых примесей. Такое производство может быть поручено ВИРу. Проведение анализа доступно любой контрольно-семенной лаборатории.

Приводим прописи рекомендуемых методов электрофореза и иммунохимии, используемых в анализе маркерных белков.

### Электрофорез проламинов

Проламины, в том числе глиадин пшеницы, секалин ржи, гордеин ячменя, авенин овса и зеин кукурузы, – запасные белки зерновки злаков. Состав компонентов этих белков, выявляемый методом электрофореза, отражает специфику сорта или линии.

Электрофорез осуществляется в полиакриламидном геле в кислой среде рН 3,1-3,2. Оборудование (электрофоретические камеры и источники



питания) может быть самодельным, отечественного или импортного производства. Можно использовать отечественные или импортные химические реактивы. Для контроля за качеством разделения проламинов и корректировки условий электрофореза служат проламины хорошо известных сортов. В частности, при подборе условий электрофореза для пшеницы, ржи, тритикале, ячменя, овса и кормовых злаковых трав успешно применяется глиадин пшеницы сорта Безостая 1. Для этой цели глиадин выделяют из навески семян (не менее 50). В спектре такого глиадина четко различаются зоны  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  и  $\omega$ -глиадина.

Признаком удовлетворительного разделения может служить получение в зонах  $\omega$  и  $\gamma$  не менее 5 и 3 отчетливо видимых компонентов (соответственно). Для обозначения компонентов внутри зон используют эталонный электрофоретический спектр проламинов, предложенный Конаревым, Гаврилюк, Губаревой в 1972 г. [1]. Его используют для пшеницы, ячменя, ржи и овса [6, 7, 14]. Для кормовых злаковых трав эталон дополняют зоной быстрых проламинов [4].

Для контроля за качеством электрофоретического разделения проламина кукурузы – зеина – удобен спектр зеина инбредной линии F2 [3]. При хорошо подобранных условиях электрофореза спектр этой линии состоит из 18 компонентов, которые обозначаются в соответствии с эталонным спектром.

Приводим описание основных этапов электрофореза проламинов. Более детально прописи методик даны в методических указаниях, приведенных в списке литературы в конце этих рекомендаций [3, 4, 6, 7, 13].

*Реактивы:*

акриламид  
метиленабисакриламид  
мочевина  
ледяная уксусная кислота  
глицин  
персульфат аммония и ТЭМЭД (или перекись водорода, аскорбиновая кислота и сульфат железа)  
дитиотрейтол (или меркаптоэтанол, или монотиоглицерол)  
пиронин G (или метиловый зеленый)  
трихлоруксусная кислота  
этанол (или 2-хлорэтанол)  
краситель Кумасси G-250, R-250 (или амидовый черный, или нигрозин).

*Выделение проламинов.* Навеску семян, отдельные семена или часть эндосперма размельчают и переносят в лунки плексигласовой пластины. Муку пшеницы и ржи заливают 10-кратным объемом 5М мочевины. Для ячменя используют 6М мочевины. Для овса и злаковых трав предпочтительнее 50-70% этанол. Зеин кукурузы извлекают 25-кратным объемом 6М мочевины, содержащей 0,16% дитиотрейтола. Экстракцию этанолом осуществляют при комнатной температуре, мочевиной при 4°C от 1 до 18ч. Прозрачную надосадочную жидкость используют при электрофорезе.

*Приготовление геля.* Электрофорез проламинов проводят в 7,5% или 10% полиакриламидном геле (табл.1).

Таблица 1

Количество реагентов (г), необходимое для приготовления 100 мл гелевой среды для электрофореза проламинов

Реактив	Модификация ВИР[6]	По Соло-ненко [16]	Стандартный метод ИСТА [6]
Акриламид	6,5	7,5	10,0
Бисакриламид	0,17	0,1	0,4
Мочевина	24,0	36	6,0
Уксусная кислота	30 мл	5 мл	2 мл
Глицин	–	–	0,1
Персульфат аммония	0,32	0,25	0,01
ТЭМЭД	0,4 мл	0,5 мл	0,3 мл
Аскорбиновая кислота	–	–	0,1
Сульфат железа	–	–	0,005
<hr/>			
Температура полимеризации	60°C	25-27°C	20°C
Время полимеризации	1 ч	1 ч	5 мин

Для более быстрой полимеризации геля и исключения предварительного электрофореза добавляют аскорбиновую кислоту до концентрации 0,1% и 0,005%-ный сульфат железа или 0,05 и 0,01% соответственно [3]. В этом случае количество персульфата аммония уменьшается в 10 раз. При введении в гель аскорбиновой кислоты и

сульфата железа допустима замена ТЭМЭД и персульфата аммония 0,35 мл 0,6%-ной перекиси водорода [6].

### Электрофорез глобулинов

Запасные глобулины накапливаются при созревании в семенах некоторых однодольных и всех двудольных растений. Существует два основных типа этих белков: 7S и 11S глобулины. Они относятся к числу наиболее изменчивых в эволюции и, следовательно, весьма перспективны для генетического маркирования видов, сортов и линий. Электрофоретические методы, позволяющие выявить гетерогенность и полиморфизм субъединиц и полипептидов этих белков, находят все большее применение в сортовой идентификации [10]. Для большинства культур (бобовые, многие овощные и плодовые) состав глобулинов может быть определен на электрофореграммах суммарных белковых экстрактов из семян. Однако у ряда культур (свекла, подсолнечник, многие крестоцветные) в семенах есть альбумины, близкие глобулинам по электрофоретической подвижности и, как правило, одинаковые у всех сортов. Их присутствие затрудняет выявление сортовых различий. В этих случаях рекомендуется очистить глобулин от примесей путем криопреципитации. В таблице 2 приведены условия выделения суммарных

Таблица 2

Оптимальные условия для криопреципитации глобулинов  
из водно-солевых экстрактов семян различных сельскохозяйственных культур

Культура	Соотношение муки и экстрагента	Концентрация NaCl в экстрагенте	pH экстрагента	Соотношение экстрагента и охлажденной воды	Лит. источник
Горох	1 : 10	0,5 М	7,0	1 : 10	[17]
Бобы	1 : 10	0,2 М	7,0	1 : 6	[8]
Подсолнечник	1 : 10	1 М	8,0	1 : 5	[5]
Свекла	1 : 10	0,2 М	7,6	1 : 10	[12]
Тыквенные	1 : 10	5%	7,0	1 : 10	[19]
Цитрусовые	1 : 5	1 М	7,0	1 : 10	[18]

белков и осадения из них глобулинов путем разбавления охлажденной водой для нескольких культур. Как видно из этих данных, вариации не очень значительны и исходя из них могут быть легко подобраны оптимальные условия для семян различных культур. Приводим описание условий выделения белков, которые, по нашим данным, могут быть успешно использованы для семян многих бобовых, рапса, капусты, томата, арбуза и плодовых косточковых.

*Выделение белков.* После измельчения семена масличных рекомендуется обезжирить серным или петролейным эфиром. Затем муку заливают 10-кратным объемом 0,2 М NaCl. Экстракция продолжается не менее 1 ч (можно оставить на ночь) при температуре 4°C. Прозрачная надосадочная жидкость, содержащая альбумины и глобулины, может быть использована для электрофореза.

Если необходимо очистить глобулины, к надосадочной жидкости приливают 10-кратный объем охлажденной дистиллированной воды и оставляют для формирования осадка глобулинов на несколько часов в холодильнике. Надосадочную жидкость сливают. Осадок растворяют в минимальном объеме буферного раствора, содержащего 0,4 г триса (трисоксиметиламинометан), 3 мл 1N HCl, 1 г додецилсульфата натрия (ДСН), 5 г сахарозы, 18 г мочевины, 2,5 мл меркаптоэтанола и 0,25 г бромфенолового синего в 100 мл воды, центрифугируют и используют для электрофореза. Меркаптоэтанол может быть заменен дитиотрейтолом или монотиоглицеролом.

*Приготовление гелей.* 12,5%-ный разделяющий рабочий гель содержит 12,5 г акриламида; 0,25 г бисакриламид; 4 г триса; 1N HCl добавляется каплями до pH 8,8 (около 6,5 мл); 0,1 г ДСН; 0,03 г персульфата аммония; 0,28 мл ТЭМЭД на 100 мл гелевой среды. Концентрирующий гель (5%-ный) содержит 5 г акриламида; 0,13 г бисакриламида; 0,24 г триса; около 6 мл 1N HCl до pH 6,8; 0,1 г ДСН; 0,02 г персульфата аммония; 0,15 мл ТЭМЭД на 100 мл гелевой среды.

*Электрофорез.* Буфером для электродных сосудов служит 0,025 М трис-глициновый буфер pH 8,3, содержащий 0,1%-ный ДСН.

Сила тока устанавливается 10 мА на одну гелевую пластину, размером 120 x 130 x 1 мм, до формирования четкой полосы красителя на границе концентрирующего и разделяющего гелей и затем 30 мА до конца электрофореза, который определяется моментом достижения красителя нижнего края пластины.

Гелевые пластины окрашивают, как описано в предыдущем разделе для проламинов.

Детальное описание методик приведено в методических указаниях по гороху, подсолнечнику и свекле [5, 12, 17].

### Иммунохимический анализ белков семян

Белки семян обладают видовой и сортовой специфичностью. При иммунизации животных белками семян формируются антитела, способные очень хорошо выявлять видовые особенности семян. Поэтому такие антитела или сыворотки иммунизированных животных служат для видовой идентификации семян или обнаружения видовых примесей. Очень часто иммунохимически различаются белки семян культурных и диких форм одного и того же вида. Как правило, у диких форм есть белок, отсутствующий у культурных. Такой белок используется как маркер дикой формы и обычно хорошо выявляется сывороткой, полученной на белки семян этой дикой формы. Поскольку дикие и примитивные формы сейчас широко привлекаются в селекции на устойчивость, диагностическая сыворотка рекомендуется для контроля за сохранением гибридности при репродукциях.

Подробные прописи для проведения иммунохимического анализа белков семян даны в методических указаниях “Иммунохимическое исследование белков семян”, подготовленных Э. Э. Егги и И. П. Гаврилюк под редакцией академика ВАСХНИЛ В. Г. Конарева [8].

*Выделение белков для иммунохимического анализа.* Наиболее отчетливо видовая специфичность проявляется у белков семян, особенно у запасных. Для иммунохимического анализа белки могут извлекаться так же, как для электрофореза. У злаков иммунохимически активны белки, извлекающиеся вместе с проламинами, а у двудольных сами запасные глобулины и сопутствующие им альбумины. В связи с этим для иммунохимического анализа обычно используется суммарный экстракт без очистки запасных белков. Для анализа могут быть взяты белки из навески семян, отдельных семян, части семядоли или эндосперма с сохранением остального семени на посев. У мелкосемянных видов можно брать семядоли через несколько дней после прорастания.

*Получение иммунных сывороток.* Чаще всего для приготовления иммунных сывороток используют кроликов. Существует много схем иммунизации. Для белков семян успешно используют следующую: три

внутримышечные инъекции с недельными интервалами и одна – через месяц. Каждый раз вводится от 5 до 20 мг (но не менее 1 мг) белка, эмульгированного в равном объеме адьюванта Фрейнда. При хорошем титре кровь собирают на 10-й день от последней инъекции, отбирают сыворотку и хранят запаянной в ампулах при  $-10^{\circ}\text{C}$ . В качестве антисептика добавляют 0,01% мертиолята или азида натрия. Активность сывороток сохраняется в течение многих лет.

*Проведение иммунохимического анализа.* Для практического использования в лабораториях научно-исследовательских и семеноводческих учреждений могут быть рекомендованы методы, основанные на явлении преципитации в гелях. Используется 1%-ный агаровый или агарозный гель. При взаимодействии белков семян и антител из диагностических сывороток в слое прозрачного геля формируются хорошо видимые линии преципитации, которые для лучшего контрастирования могут быть окрашены любым красителем на белок (амидовый черный, кумасси и др.).

Самым простым, пригодным для массового анализа методом иммунопреципитации является *двойная диффузия* в гелях. Белки и сыворотки вносятся в резервуары, вырезанные в геле, и при свободной встречной диффузии формируют линии преципитации, по которым определяют наличие в анализируемом материале того или иного маркерного белка.

Более сложным, требующим электрофоретического оборудования, является *ракетный иммуноэлектрофорез*. Этот метод обладает большей разрешающей способностью, дает белкам-маркерам не только качественную, но и количественную характеристику, более экономичен в расходе белков и диагностических сывороток.

#### Рекомендуемая литература

1. А.с. № 507271. Способ сортовой идентификации зерна и муки пшеницы/ Конарев В. Г., Гаврилюк И. П., Губарева Н. К. Заяв. 1 сентября 1972. Опубл. 11 ноября 1975. Бюл.№11, 1975.

2. Анисимова И. Н. Идентификация сортов, линий и гибридов подсолнечника по составу полипептидов гелиантинина// Сб.тр.по прикл. бот., ген. и сел., 1987. Т.114. С.114-126.

3. Идентификация, анализ и регистрация сортов, линий и гибридов кукурузы по зеину методами электрофореза и изоэлектрофокусирования:

Методические указания/ Сост.: Конарев В. Г., Сидорова В. В., Тимофеева Г. И. Под ред. В. Г. Конарева. Л.: ВИР, 1987. 27 с.

4. Идентификация сортов злаковых трав электрофорезом проламинов: Методические указания/ Сост.: Конарев А. В. и др. Под ред. И. П. Гаврилюк. Л.: ВИР, 1987.

5. Идентификация, анализ и регистрация сортов, линий и гибридов подсолнечника методом электрофореза гелиантинина: Методические указания/ Сост.: Анисимова И. Н. Под ред. И. П. Гаврилюк. Л.: ВИР, 1988. 22 с.

6. Идентификация сортов пшеницы и ячменя методом электрофореза: Методические указания/ Сост.: Гаврилюк И. П., Гайденкова Н. В. и др. Под ред. В. Г. Конарева. Л.: ВИР, 1989.

7. Идентификация сортов и линий ржи электрофорезом секалина: Методические указания/ Сост.: Пенева Т. И. и др. Под ред. В. Г. Конарева. Л.: ВИР, 1989.

8. Иммунохимическое исследование белков семян: Методические указания/ Сост.: Егги Э. Э., Гаврилюк И. П. Под ред. В. Г. Конарева. Л.: ВИР, 1987. 47 с.

9. Конарев В. Г. Белки пшеницы. М., 1980. 352 с.

10. Конарев В. Г. Белки растений как генетические маркеры. М., 1983. 320 с.

11. Конарев В. Г., Пенева Т. И., Лубо-Лесниченко И. Ф. Анализ сортовых популяций ржи по электрофоретическим спектрам глиаина// Вестн. с.-х. науки. 1983. № 2. С.30-38.

12. Методические указания по применению белковых маркеров для паспортизации селекционных материалов сахарной свеклы/ Сост.: Лесневич Л. А., Борисюк В. А., Гаврилюк И. П. Киев, 1988. 14 с.

13. Методические указания по электрофорезу зеина кукурузы для определения процента гибридности семян  $F_1$  / Сост.: Попереля Ф. А., Асыка Ю. А., М., 1988. 12 с.

14. Перечень возделываемых в СССР сортов овса с белковыми формулами / Сост.: Губарева Н. К. и др. Под ред. В. Г. Конарева. Л.: ВИР, 1987. 15 с.

15. Сидорова В. В., Тимофеева Г. И., Конарев В. Г. Идентификация и регистрация сортов, линий и гибридов кукурузы методами электрофореза зеина// Сб. тр. по прикл. бот., ген. и сел., 1987. Т.114. С.61.

16. Солоненко Л. П. Идентификация линий ярового ячменя повышенной питательной ценности методом электрофоретического

анализа белков зерна в тонком слое полиакриламидного геля: Тезисы докл. IV съезда ВОГиС. Кишинев, 1982. Ч.2. С.151-152.

17. Тарлаковская А. М. Идентификация сортов гороха по электрофоретическим спектрам глобулинов// Белковые маркеры в сортовой идентификации и регистрации генетических ресурсов культурных растений. Л.: ВИР, 1987. С.100-105.

18. Хухунаишвили Р. Г., Егги Э. Э., Конарев В. Г. Иммунохимическое и электрофоретическое изучение белков семян цитрусовых // Доклады ВАСХНИЛ, 1988. № 2. С.18-20.

19. Kononkov P. F., Degtyarenko L. V., Odintsova T. I. Identification of Cucurbitaceae species and varieties by electrophoresis of cucurbitin// In book: Biochemical Identification of Varieties (Materials III Inter. Symposium ISTA. Leningrad, 1987). L.: VIR, 1988.



7. Кандидатские диссертации, подготовленные  
в отделе молекулярной биологии и защищенные

Диссертант	Тема	Год защиты
1. Милицкая М. Ф. (В. Г. Конарев)	Влияние физиологически активных веществ на химический состав и структурное состояние хроматина клеточных ядер проростков гороха	1969
2. Тома З. Г. (В. Г. Конарев)	О природе белков хроматина клеточного ядра. Белки РНКП хроматина гороха	1969
3. Алексеев В. Г. (В. Г. Конарев)	Гетерогенность ДНК пшеницы	1971
4. Сидорова В. В. (В. Г. Конарев)	О специфичности компонентов хроматина по данным иммунохимического анализа	1971
5. Сатбалдина С. Т. (В. Г. Конарев)	Сравнительная иммунохимия белков семян фасолиевых	1971
6. Махлаева Р. Ф. (В. Г. Конарев)	О природе и свойствах ядерной комплексно связанной РНК проростков гороха	1971
7. Губарева Н. К. (В. Г. Конарев)	Методы иммунохимического и электрофоретического анализа белков зерна и их применение в изучении геномов пшениц	1971
8. Рубченя А. Ю. (В. Г. Конарев)	Изучение зеина в связи с селекцией кукурузы на высокое качество белка	1972
9. Ямалеева А. А. (В. Г. Конарев)	Гистоны пшениц, пути выявления их специфичности и использования в биохимической генетике	1972
10. Крашенинник Н. В. (В. Г. Конарев)	Ресинтез некоторых гибридогенных Североамериканских видов картофеля <i>Solanum</i> L. секции <i>Tuberarium</i> (Dun) Buk	1973
11. Блюдонов М. А. (В. Г. Конарев)	О структурной и функциональной организации хромосом пшеницы	1973
12. Григорьева С. К. (В. Г. Конарев)	Сравнительное иммунохимическое изучение белков клубней картофеля в связи с вопросами эволюции и систематики секции <i>Tuberarium</i> рода <i>Solanum</i>	1973
13. Хакимова А. Г.	Анализ генома D пшениц и <i>Ae.</i>	1973

- (В. Г. Конарев)
14. Пенева Т. И.  
(В. Г. Конарев) *Squarrosa* L. по глиадинам  
Глиадины эгилопса секции *Sitopsis* (Jaub. et Spach. ) Zhuk. в связи с происхождением генома В пшениц 1974
15. Мойса И. И.  
(С. Л. Тютерев,  
В. Г. Конарев) Содержание белка и лизина в зерне пшеницы и её диких сородичей 1974
16. Шаяхметов И.Ф.  
(В. Г. Конарев) Компонентный состав и геномная принадлежность белков на разных фазах развития зерна *T. aestivum* L. 1974
17. Конарев А. В.  
(Т. Я. Зарубайло,  
И. П. Гаврилюк) Дифференциация генома А пшеницы по белкам 1974
18. Ямалеев А. М.  
(В. И. Кривченко,  
В. Г. Конарев) Устойчивость видов пшеницы и эгилопсов с разным геномным составом к расам пыльной головни 1974
19. Ивлева Л. А.  
(В. Г. Конарев,  
Ш. Я. Гилязетдинов) Нуклеиновые кислоты гетерозисных гибридов кукурузы и их родительских форм (новообразование и фракционный состав) 1975
20. Камалетдинова М. А.  
(В. Г. Конарев,  
Ш. Я. Гилязетдинов) Некоторые особенности структуры и функциональной активности геномов у гетерозисных гибридов кукурузы 1975
21. Митрофанова О. П.  
(В. Г. Конарев,  
Б. В. Ригин) Генетический контроль глиадина мягкой пшеницы *T. aestivum* L. 1977
22. Иштирякова Ф. К.  
(В. Г. Конарев) Электрофоретическое и иммунохимическое исследование белков и ферментов гетерозисных гибридов пшеницы 1976
23. Вахитов В. А.  
(В. Г. Конарев,  
Ш. Я. Гилязетдинов) Повторяющиеся нуклеотидные последовательности в ДНК разных видов и сортов пшеницы 1977
24. Тарлаковская А. М.  
(И. П. Гаврилюк) Иммунохимическое изучение белков семян виковых в связи с вопросами дифференциации видов и родов трибы *Vicieae* Bronn. 1979
25. Васильева Т. Н.  
(А. В. Конарев) Геномный анализ в роде *Elytrigia* Desv. по белкам семян 1980
26. Грушин А. А.  
(В. Г. Конарев) Иммунофлуоресцентный анализ хроматина и гистонов в клеточных ядрах растений 1980
27. Гаевская Е. И. Сравнительное изучение геномов 1981

- (В. Г. Конарев) пшеницы и её диких сородичей методами реассоциации и гибридизации ДНК
28. Оглуздин А. С. (И. П. Гаврилюк) Геномный анализ видов картофеля по белкам клубней 1981
29. Егги Э. Э. (И. П. Гаврилюк) Иммунохимические методы в изучении специфичности и эволюции глобулинов семян бобовых 1981
30. Шевчук Т. Е. (И. П. Гаврилюк, Р. М. Аведжанов) Белки семян гречихи *F. esculentum* Moench. в решении вопросов происхождения культуры и её родства с другими видами семейства *Polygonaceae* Lindl. 1981
31. Черненко А. П. (И. П. Гаврилюк) Иммунохимические методы в оценке качества белков сои 1981
32. Лукина Н. И. (А. Я. Трофимовская, З. В. Чмелева) Изучение ячменей западно-европейской и абиссинской эколого-географических групп на содержание белка и лизина с целью выявления форм, перспективных для селекции 1981
33. Семенова А. Я. (И. П. Гаврилюк) Физиолого-биохимические особенности пищевых отношений хлебных клопов с пшеницей 1981
34. Кудрякова Н. В. (И. П. Гаврилюк, Б. В. Ригин) Генетический контроль изоферментов эстеразы у ржи 1981
35. Анисимова И. Н. (И. П. Гаврилюк) Генетико-иммунохимическое изучение североамериканских видов рода *Helianthus* L. 1982
36. Шатов В. А. (В. Г. Конарев) Анализ механизмов биосинтеза и природы гетерогенности субъединиц легумина бобов (*Faba bona* Medic.) 1982
37. Стрельченко П. П. (В. Г. Конарев) Механизмы биосинтеза запасных белков мягкой пшеницы (*T. Aestivum* L.) 1983
38. Конарев Ал. В. аспирант ВИЗР (И. П. Гаврилюк) Природа ингибиторов амилаз в связи с проблемами эволюции и иммунитета пшеницы и др. злаков 1983
39. Кравцова Т. А. аспирант НГБС (И. П. Гаврилюк) Иммунохимическая специфичность белков семян у видов и родов косточковых 1983
40. Буткуте Б. Л. Иммунохимическое и электро- 1984

- (А. В. Конарев,  
И. П. Гаврилюк)
41. Бунтина М. В.  
(В. Г. Конарев,  
З. В. Чмелева) 1984
42. Жебентяева Т. Н.  
(В. Г. Конарев) 1984
43. Примак С. П.  
(А. В. Конарев) 1984
44. Хухунашвили Р. Г.  
(В. Г. Конарев) 1984
45. Барисашвили М. А.  
(А. В. Конарев) 1985
46. Лубо-Лесниченко И. Ф.  
(В. Г. Конарев) 1985
47. Тохвер М. Н.  
(И. П. Гаврилюк) 1985
48. Еськова Л. И.  
(Н. К. Губарева,  
В. Г. Конарев) 1986
49. Введенская И.О.  
(А. В. Конарев) 1986
50. Чмелев В.М.  
(А. В. Конарев) 1988
51. Гайденова Н. В.  
(В. Г. Конарев) 1988
52. Лаврова Н. В.  
(И. П. Гаврилюк) 1990
53. Тимина М. А.  
(З. В. Чмелева,  
Н. А. Сурин) 1991
54. Лисицын Е. М.  
(И. П. Гаврилюк) 1991
55. Берулава А. 1991
- форетическое исследование белков  
семян *Lolium L.* и *Festuca L.* в связи  
с филогенией этих родов
- Некоторые св-ва белков зерна мяг-  
кой пшеницы, определяющие тех-  
нологические показатели качества
- Специфичность и полиморфизм  
гистонов растений
- Белки семян в изучении межвидо-  
вых связей и внутривидовой диф-  
ференциации мятликовых *Poa L.*
- Белки семян померанцевых как  
биохимические маркеры в изуче-  
нии генофонда рода *Citrus L.*
- Анализ геномного состава грузин-  
ских эндемических видов пшениц  
по белкам семян
- Полиморфизм и специфичность  
глиаина ржи
- Характеристика белков мутантов  
мягкой яровой и озимой пшеницы в  
условиях Эстонской ССР
- Использование белковых маркёров  
в регистрации генофонда твёрдой  
пшеницы в связи с селекцией на  
хозяйственно ценные признаки
- Биохимическая характеристика  
проламинов и их использование в  
идентификации сортов ежи  
*Dactylis L.*
- Природа и свойства геномно-  
специфичных белков пшеницевых  
*Triticeae Dum.*
- Компонентный состав проламинов  
мягкой озимой пшеницы Крымки
- Специфичность и полиморфизм  
глобулинов семян люпина
- Высококачественные ячмени, их  
биологические особенности и  
селекционное значение в условиях  
лесостепи Красноярского края
- Полиморфизм и антигенные св-ва  
глобулина семян сахарной свёклы
- Изучение грузинских пшениц по

- (А. В. Конарев)
56. Перчук И.Н.  
(А. В. Конарев) белкам зерна  
Полиморфизм проламина и его использование в идентификации и регистрации генетических ресурсов овсяницы 1991
57. Насонова Е.А.  
(А. В. Конарев) Проламинны во внутривидовой дифференциации и сортовой идентификации плевела много-летнего *Lolium perenne* 1992
58. Хомутникова Л.А.  
(А. В. Конарев) Полиморфизм запасных белков сорго в связи с регистрацией ресурсов и систематикой рода *Sorghum* 1993
59. Соловьева А.Е.  
(А. В. Конарев,  
Л. В. Сазонова) Биохимическая характеристика перспективного генофонда моркови как исходного материала для селекции по пищевым и вкусовым качествам 1993
60. Турсумбекова Г. Ш.  
(З. В. Чмелева,  
Р. А. Удачин) Продуктивность и качество зерна яровой пшеницы различного эколого-географического происхождения в условиях Северного Казахстана 1993
61. Токарева И. В.  
(И. П. Гаврилюк) Гетерогенность и полиморфизм белков облепихи (*Hippophae rhamnoides* L.) 1993
62. Корсакова Е. Н.  
(И. П. Гаврилюк) Запасные глобулины семян бобовых как криобелки 1995
63. Хмыль Т. О.  
(В. Г. Конарев) Генетический контроль секалинов ржи (*Secale cereale* L.) 1995
64. Фогель И.В.  
(А. В. Конарев) Характеристика пряноароматических растений из семейства губоцветных *Laminaceae* L. по количественному содержанию и качеству эфирных масел 1997
65. Комиссарова Ю. В.  
(И. П. Гаврилюк) Гетерогенность и полиморфизм ингибиторов протеиназ сои и гороха 1998
66. Смирнова Е. В.  
(В. И. Пыженков  
И. П. Гаврилюк) Белковые маркеры сортов и гибридов огурца и перспективы их использования в селекции и семеноводстве 2000
67. Романова Ю.А. Использование полиморфизма 2002

- (А. В. Конарев,  
О.П.Митрофанова)
68. Жукова М.А.  
(А. В. Конарев,  
Н.И.Дзюбенко) Биохимическая характеристика популяций козлятника восточного *Galega orientalis* Lam 2003
69. Шеленга Т.А.  
(А. В. Конарев,  
Н.И.Дзюбенко) Характеристика эндофитсодержащих образцов овсяницы луговой *Festuca pratensis* L. из коллекции ВИР им. Н. И. Вавилова 2006
70. Зеленская Я.Г.  
(А. В. Конарев,  
И.Г.Лоскутов) Характеристика генофонда староместных форм овса посевного (*Avena sativa* L.) по полиморфизму авения 2006
71. Якупова И. А.  
(И. Н. Анисимова  
Л. И. Шашилова) Генотипическая характеристика салата рода *Lactuca* L. из мировой коллекции ВИР. 2006
- глиадина при формировании рационально организованной коллекции *Triticum spelta* L.

8. Каталоги сортовых белковых формул, методические указания и рекомендации по использованию белковых маркеров в селекции, семеноводстве и семенном контроле (под редакцией В. Г. Конарева)

№ п/п	Название изданий	Составители
----------	------------------	-------------

По общим вопросам

- |    |   |  |
|----|---|--|
| 1. | “Рекомендации по использованию белковых маркеров в сортоиспытании, семеноводстве и семенном контроле” – ВАСХНИЛ, ВИР. Госкомиссия по сортоиспытанию. М.-Л., 1989. 22 с. | Гаврилюк И. П.<br>Федин М. А.<br>Губарева Н. К.<br>и др.                                     |
| 2. | “Методические указания по иммунохимическому и электрофоретическому исследованию растительных белков” – Л.: ВИР, 1973. 44 с.   | Гаврилюк И.П.<br>Губарева Н.К.   |
| 3. | “Иммунохимическое исследование белков семян” – Методические указания. Л.: ВИР, 1987. 47 с.  | Егги Э. Э.<br>Гаврилюк И. П.   |
| 4. | “Применение электрофореза белков в первичном семеноводстве зерновых культур” – Методические указания. СПб.: ВИР, 1993. 42 с.  | Литовченко М. И.<br>Губарева Н. К.<br>Гаврилюк И. П.<br>Ред.: В. Г. Конарев<br>В. Г. Еникеев |

По культурам

Пшеница

- |    |  |  |
|----|--|--|
| 5. | “Определение подлинности и сортовой чистоты семян пшеницы по электрофоретическим спектрам глиаина” – Методические указания и каталог сортовых формул. Л.: ВИР, 1975. 36 с. | Губарева Н. К.<br>Гаврилюк И. П.<br>Чернобурова А. Д.<br>Ред.: В. Г. Конарев<br>Н. Г. Хорошайлов |
| 6. | “Сортовая идентификация твердой пшеницы по электрофоретическим спектрам глиаина” – Каталог мир. кол. ВИР (сортовые формулы). Вып.218. 1978. 39с.                           | Губарева Н. К.<br>Чернобурова А. Д.<br>Руденко М. И.   |

7. “Идентификация видов пшеницы по электрофоретическим спектрам глиадина (формулы)” – Каталог мир. кол. ВИР. Вып.232. 1978. 43 с.
  8. “Пшеницы засушливых областей мира (формулы глиадина)” – Каталог мир. кол. ВИР. Вып.280. 1980. 45 с.
  9. “Пшеницы с высоким и повышенным содержанием белка в зерне (формулы глиадина) – Каталог мир. кол. ВИР. Вып.293. 1980. 28 с.
  10. “Идентификация образцов T.dicocum по электрофоретическим спектрам глиадина” – Каталог мир. кол. ВИР. Вып.341. Л., 1982. 46 с.
  11. “Идентификация отечественных сортов озимой мягкой пшеницы по электрофоретическим спектрам глиадина (формулы)” – Каталог мир. кол. ВИР. Вып.368. Л., 1983. 58 с.
  12. “Перечень образцов яровой твердой пшеницы мировой коллекции ВИР с формулами глиадина” -Л.: ВИР, 1987. 35с.
  13. “Сорта озимой мягкой пшеницы мировой коллекции ВИР с высоким качеством зерна (формулы глиадина)” – Перечень-каталог. Л.: ВИР, 1987. 40 с.
  14. “Идентификация стародавних сортов озимой мягкой пшеницы по электрофоретическим спектрам глиадина (формулы) – Каталог мир. кол. ВИР. Вып.559. Л., 1990. 63 с.,
  15. “Идентификация стародавних сортов озимой мягкой пшеницы методом электрофореза субъединиц глютеина”– Методические указания. СПб.: ВИР, 1992. 33 с.
- Губарева Н. К.  
Чернобурова А. Д.  
Конарев А. В.  
Филатенко А. А.  
Губарева Н. К.  
Чернобурова А. Д.  
Тихонов В. Е.  
Губарева Н. К.  
Чернобурова А. Д.  
Новикова М. В.  
Удачин Р. А.  
Короваев А. Н.  
Губарева Н. К.  
Филатенко А. А.
- Губарева Н. К.  
Чернобурова А. Д.  
Новикова М. В.  
Барашкова Э. А.
- Еськова Л. И.  
Губарева Н. К.
- Губарева Н. К.  
Новикова М. В.  
Павлова Н. Е.  
Щипкова Л. Е.  
Гайденкова Н. В.  
Губарева Н. К.  
Новикова М. В.  
Павлова Н. Е.  
Щипкова Л. Е.  
Алпатьева Н. В.  
Губарева Н. К.  
Новикова М. В.  
Павлова Н. Е.  
Щипкова Л. Е.



16. “Идентификация сортов пшеницы и ячменя методом электрофореза” – Методические указания. Л.: ВИР, 1989. 15 с.

#### Я ч м е н ь

17. “Сортовая идентификация ячменя по электрофоретическим спектрам гордеина” – Методические указания. Л.: ВИР, 1975. 34 с.

#### Э г и л о п с ы

18. “Эгилопсы с геномом D (белковые формулы)” – Каталог мир. кол. ВИР. Вып.217. Л., 1978. 26 с.

19. “Эгилопсы (белковые формулы)” – Каталог мир. кол.ВИР.Вып.241. Л., 1979. 15 с.

20. “Эгилопсы (белковые формулы)” – Каталог мир. кол.ВИР.Вып.352. Л., 1982. 16 с.

21. “Идентификация, анализ и регистрация образцов и природных популяций *Ae. squarrosa* L. по белкам зерна методами электрофореза и иммунохимии” – Методические указания и каталог белковых формул. Л.: ВИР, 1991. 69 с.

#### О в е с

22. “Перечень возделываемых в СССР сортов овса с белковыми формулами” – Л.: ВИР, 15 с.

#### Р о ж ь

23. “Анализ и регистрация сортов и линий ржи по секалину методом электрофореза” – Методические указания и каталог типов спектра секалина. Л.: ВИР, 1989. 50 с.

Гаврилюк И. П.  
Гайденкова Н. В.  
Губарева Н. К.  
Павлова Н. Е. и др.

Гаврилюк И. П.  
Дягилева Г. Е.  
Лукьянова М. В.  
Гудкова П. И. и др.

Хакимова А. Г.  
Мигушова Э. Ф.

Хакимова А. Г.  
Пенева Т. И.  
Мигушова Э. Ф.  
Хакимова А. Г.  
Мигушова Э. Ф.

Хакимова А. Г.  
Гаврилюк И. П.  
Мигушова Э. Ф.  
Зуев Е. В.  
Ред.: В. Г. Конарев  
А. Ф.Мережко

Губарева Н. К.  
Павлова Н. Е.  
Родионова Н. А.  
Солдатов В. Н.

Пенева Т. И.  
Мартыненко Н. М.

### Т р и т и к а л е

24. “Тритикале (белковые формулы)” – Каталог мир. кол. ВИР. Вып. 216, Л., 1978. 35 с.

Пенева Т. И.  
Иванова Д. И.  
Куркиев У. К.

### К у к у р у з а

25. “Идентификация, анализ и регистрация сортов, линий и гибридов кукурузы по зеину методами электрофореза и изоэлектрофокусирования” – Методические указания. Л.: ВИР, 1987. 30 с.

Конарев В. Г.  
Сидорова В. В.  
Тимофеева Г. И.  
Ред.:  
И. П. Гаврилюк

### П о д с о л н е ч н и к

26. “Идентификация, анализ и регистрация сортов, линий и гибридов подсолнечника методом электрофореза гелиантинина” – Методические указания. Л.: ВИР, 1988. 22 с.
27. “Самоопыленные маркированные линии подсолнечника” – СПб.: ВИР, 1992. Вып. 627, 25 с.

Анисимова И. Н.  
Ред.:  
И. П. Гаврилюк

Анащенко А. В.  
Гаврилова В. А.  
Анисимова И. Н.  
Рожкова В. Т.  
Смирнова Н. Г.

### Г о р о х

28. “Идентификация сортов гороха методом электрофореза белков семян” – Методические указания. Л.: ВИР, 1990. 21 с.,

Тарлаковская А. М.  
Егги Э. Э.  
Гаврилюк И. П.  
Беляева Ж. И.

### С а х а р н а я с в е к л а

29. “Методические указания по применению белковых маркеров для паспортизации селекционных материалов сахарной свеклы” – Киев, 1988. 14 с.
30. “Применение белковых маркеров для идентификации селекционных материалов сахарной свеклы” – Методические указания. Л.: ВИР, 1991. 17с.

Лесневич Л. А.  
Борисюк В. А.  
Гаврилюк И. П.  
  
Лесневич Л. А.  
Борисюк В. А.  
Гаврилюк И. П.  
Лисицын Е. М.

### Капуста

31. “Идентификация, регистрация и оценка чистоты сортов, линий и гибридов капусты методами электрофоретического анализа изоферментов и запасных белков” – Методические указания. Л.: ВИР, 1991. 26 с.

Фарбер С. П.  
Кудрякова Н. В.  
Ред.:  
И. П. Гаврилюк

### Кормовые злаки

32. “Идентификация сортов ежи, овсяницы и плевела методом электрофореза проламинов” – Методические указания. Л.: ВИР, 1988.

Конарев А. В.  
Введенская И. О.  
Насонова Е. А.  
Перчук И. Н.  
Ред.:  
И. П. Гаврилюк

9. Каталоги “Мировой коллекции ВИР” зерновых, бобовых, масличных и кормовых культур с характеристикой образцов по содержанию и качеству белка.

Составитель – З. В. Чмелева с соавторами.

Редактор – В. Г. Конарев

№ п/п	Каталог и год издания	П.л.	Соавторы
П ш е н и ц а			
1.	“Каталог образцов пшениц из мировой коллекции ВИР с характеристикой по содержанию в них белка, лизина и триптофана” – Л.: ВИР, 1971. Вып. 82.	8,0	Будин К. З. Конарев В. Г. Дорофеев В. Ф. и др.
2.	“Каталог образцов пшениц мировой коллекции ВИР с характеристикой по содержанию белка и аминокислот” – Л.: ВИР, 1972. Вып.100.	7,0	Конарев В. Г. Дорофеев В. Ф. Якубцинер М. М. Тютюрев С. Л. и др.
3.	“Образцы лучших пшениц мирового сорта с характеристикой по содержанию белка и лизина” – Вып.154. 1975.	4,5	Конарев В. Г. Удачин Р. А.
4.	“Образцы пшениц, выращенных в условиях Нечерноземной зоны, с характеристикой по содержанию белка и лизина” – Вып.153. 1975.	1,0	Руденко М. И. Комаров В. И. Смирнов В. И.
5.	“Образцы пшениц среднеазиатского генцентра с результатами изучения содержания в зерне белка и лизина” – Вып.171. 1976.	5,5	Удачин Р. А. Комаров В.И.
6.	“Образцы озимых пшениц, выращенных в Нечерноземной зоне, на Украине и Кубани с характеристикой по содержанию в зерне белка и лизина” – Вып.173. 1976.	5,8	Конарев В.Г. Новикова М. В.
7.	“Пшеницы с высоким и повышенным содержанием белка в зерне” – Вып.182. 1976.	1,8	Конарев В. Г. Дорофеев В. Ф. Удачин Р. А. и др.

- |     |   |      |  |
|-----|---|------|--|
| 8.  | “Качество зерна озимых мягких пшениц, выращенных в различных эколого-географических условиях” – Вып.200. 1977.                      | 5,8  | Конарев В. Г.<br>Комаров В. И.<br>Степанова Г. И.<br>и др. |
| 9.  | “Твердая пшеница (новейшие поступления с характеристикой технологических свойств зерна)” – Вып.203. 1977.                           | 2,5  | Комаров В. И.<br>Ярина Г. Н.<br>Дорофеев В. Ф.<br>и др.    |
| 10. | “Качество зерна мягкой пшеницы в различных условиях выращивания” – Вып.245. 1979.   | 5,5  | Конарев В.Г.<br>Комаров В. И.<br>Никифорова Н. Ф.          |
| 11. | “Лучшие образцы короткостебельных мягких пшениц” – Вып.262. 1979.   | 6,0  | Удачин Р. А.<br>Медведев А. М.<br>Комаров В. И. и др.      |
| 12. | “Виды пшениц с характеристикой по содержанию белка и лизина в зерне” – Вып.364. 1983.   | 2,25 | Ермолаева Л. Н.<br>Удачин Р. А.<br>Потокина С. А.          |
| 13. | “Продуктивность и качество зерна отечественных образцов озимой мягкой пшеницы в различных условиях выращивания” – Вып.402. 1984.    | 6,9  | Комаров В. И.<br>и др.                                     |
| 14. | “Скороспелые мягкие яровые пшеницы” – № 428. 1985.  | 4,5  | Удачин Р. А.<br>и др.                                      |
| 15. | “Яровая мягкая пшеница (результаты комплексного изучения перспективных по качеству образцов в условиях Поволжья)” – № 425. 1985.    | 6,0  | Комаров В.И.<br>Никифорова Н.Ф.<br>и др.                   |
| 16. | “Перечень образцов яровой пшеницы с характеристикой агробиологических и технологических свойств зерна в условиях Поволжья” – 1987.  | 6,3  | Комаров В. И.<br>Никифорова Н. Ф.<br>и др.                 |
| 17. | “Перечень образцов яровой пшеницы с хозяйственно биологическими признаками в условиях ЦЧР и Центр. р-на Нечерн. зоны РСФСР” – 1987. | 4,0  | Комаров В. И.<br>Никифорова Н. Ф.                          |

- |         |  |      |   |
|---------|--|------|---|
| 18.     | “Перечень образцов мягкой яровой пшеницы из мировой коллекции ВИР с высокими технологическими свойствами зерна” – Перечень-каталог. 1986.            | 6,4  | Комаров В. И.<br>Никифорова Н. Ф.                       |
| 19.     | “Перечень образцов яровой пшеницы с характеристикой агробиологических и технологических свойств зерна в условиях Поволжья” – Перечень-каталог. 1986. | 6,3  | Комаров В. И.<br>Никифорова Н. Ф.                       |
| 20.     | “Озимая мягкая пшеница (результаты комплексного изучения образцов в условиях Северного Казахстана)” – Вып.478. 1989.                                 | 4,0  | Ганеев В. А.<br>Новикова М. В.<br>и др.                 |
| 21.     | “Кормовые пшеницы в условиях Латвийской ССР (образцы с характеристикой по содержанию белка и лизина в зерне)” – Вып. 484. 1989.                      | 3,0  | Страздине В. А.<br>Удачин Р. А.<br>и др.                |
| 22.     | “Агробиологическая оценка перспективных по качеству образцов яровой пшеницы в условиях Тамбовской области” – Вып. 543. 1990.                         | 3,0  | Комаров В. И.<br>Никифорова Н. Ф.<br>и др.              |
| Р о ж ь |  |      |   |
| 23.     | “Каталог образцов ржи из мировой коллекции ВИР с характеристикой по содержанию в зерне белка и незаменимых аминокислот” – Вып.137. 1974.             | 4,5  | Трофимовская А.Я.<br>Кобылянский В. Д.                  |
| 24.     | “Рожь” – Вып.152. 1975.  | 8,0  | Кобылянский В. Д.<br>Корзун А. Е.<br>Ракитина А.П.и др. |
| 25.     | “Образцы ржи с характеристикой по содержанию 5-алкилрезорцинолов в зерне” – Вып.197. 1977.   | 3,0  | Козлова К.Г.<br>Кобылянский В. Д.                       |
| 26.     | “Образцы ржи с характеристикой по содержанию белка и лизина в зерне” – Вып.225. 1978.  | 2,25 | Кобылянский В. Д.<br>Корзун А. Е.                       |

- |                   |   |      |  |
|-------------------|---|------|--|
| 27.               | “Рожь” – Вып. 227. 1978.  | 7,75 | Корзун А. Е.<br>Ракитина А.Н. и др.                      |
| 28.               | “Рожь (сорнополевая)” – Вып.259. 1979.  | 1,5  | Кобылянский В. Д.<br>Корзун А. Е.<br>Ракитина А. Н.      |
| 29.               | “Рожь” – Вып.324. 1982.   | 3,8  | Кобылянский В. Д.<br>Корзун А. Е.<br>Ракитина А.Н. и др. |
| 30.               | “Озимая рожь” – Вып.489. 1989.  | 2,5  | Кобылянский В. Д.<br>Корзун А. Е.<br>Ракитина А.Н. и др. |
| 31.               | “Озимая тетраплоидная рожь” – Вып.532. 1990.  | 3,0  | Кобылянский В. Д.<br>и др.                               |
| 32.               | “Озимая диплоидная и тетраплоидная рожь” – Вып.607. 1991.   | 30с. | Кобылянский В. Д.<br>Белугина Н.О. и др.                 |
| 33.               | “Рожь озимая” – Вып. 680. 1996.   |      | Кобылянский В. Д.<br>Белугина Н. О.<br>Чмелева З.В.      |
| Т р и т и к а л е |   |      |  |
| 34.               | “Образцы озимых форм тритикале с характеристикой содержания белка, лизина и 5-алкилрезорцинолов в зерне”- Вып.332. 1982.                            | 4,0  | Захаренкова О. И.<br>Рехметулин Р. М.                    |
| 35.               | “Образцы тритикале с характеристикой содержания белка, лизина и выполненности зерна” – №398. 1984   | 2,5  | Куркиев У. К.<br>и др.                                   |
| 36.               | “Перечень образцов тритикале” выращенных в условиях орошения Карабахской низменности Азерб ССР с характеристикой содержания белка и лизина” – 1987. | 3,8  | Мамедов З. А.<br>и др.                                   |
| 37.               | “Образцы тритикале, выращенные в условиях Карабахской низменности с характеристикой содержания белка и лизина” – Перечень-каталог. 1987.            |      | Ахмедов З. А.<br>и др.                                   |
| 38.               | “Результаты изучения крупнозерновых форм тритикале на качество зерна” – Бюл.ВИР, № 195. 1989.   | 0,3  | Чикида Н. Н.   |

39. “Тритикале (биохимическая характеристика образцов)” – Вып.635. 1993. Лавринова В. И.
40. “Образцы тритикале в условиях орошения Таджикистана с характеристикой содержания белка и лизина” – Вып.660. 1994. Чмелева З. В.  
Баранова Е. А.  
Лавринова В. И.
- О в е с**
41. “Овес (генетический фонд для создания сортов интенсивного типа)” – Вып. 149. 1975. 2,75 Родионова Н. А.  
Солдатов В. Н.  
Иванова Н. С.
42. “Образцы овса с характеристикой содержания белка и лизина в зерне” – Вып. 346. 1982. 4,0 Ермолаева Л. Н.  
Федотова З. М.  
Родионова Н.А., др.
43. “Овес (образцы с характеристикой содержания белка и лизина)” – Вып.479. 1989. 2,0 Лавринова В. И.  
и др.
44. “Овес (характеристика образцов по содержанию белка, жира и крахмала в условиях Кемеровской области)” – Вып.662. 1994. Солдатов В. Н.  
Чуманова Н. А.  
Чмелева З. В.  
и др.
45. “Овес” – Вып.128. 1974. Родионова Н. А.  
Солдатов В. Н.  
Тютюрев С Л.
- Я ч м е н ь**
46. “Ячмень (исходный материал для селекции в Нечерноземной зоне РСФСР)” – Вып. 170. 1976. 17,5 Лукьянова М. В.  
Трофимовская А.Я.  
Барташевич В. И.  
Горелик К. С. и др.
47. “Ячмень (характеристика образцов по содержанию белка и лизина)” – Вып. 278. 1980. 5,5 Лукина Н. И.  
Трофимовская А.Я.  
Лукьянова М. В.
48. “Характеристика образцов по содержанию белка и лизина” – Вып. 278. 1980. 5,5 Лукина Н. И.  
Трофимовская А.Я.  
Лукьянова М. В.
49. “Ячмень (характеристика образцов по содержанию белка в зерне и лизина в белке)” – Вып. 335. 1982. 8,0 Нагибин А. Е.  
Лукьянова М. В.  
Петрова А. Е.  
Трофимовская А.Я.



50. “Яровой ячмень (характеристика образцов по содержанию белка и лизина в условиях Краснодарского края)” – Вып.636. 1993.
- П р о с о
51. “Образцы проса с характеристикой содержания белка и лизина в зерне” – Вып. 261. 1979.
52. “Перечень образцов проса с технологическими и биохимическими признаками в условиях Лесостепи Украины” – Перечень-каталог. 1987.
53. “Просо (образцы с характеристикой биологических, технологических свойств, содержания белка и лизина)” – Вып.528. 1990.
54. “Технологические, хозяйственно-биологические свойства проса в условиях Тамбовской области” – Вып.607. 1991.
- Б о б о в ы е к у л ь т у р ы
55. “Образцы подсолнечника с характеристикой содержания белка в ядре, метионина и лизина в белке и масличности семян” – Вып.286. 1980.
56. “Образцы сои с характеристикой белка и метионина в семенах” – № 339. 1982.
57. “Вика посевная (содержание белка и метионина в сем.)” – Вып. 407. 1984.
58. “Перечень образцов вики посевной с высоким качеством семян и зеленой массы” – 1987.
59. “Перечень образцов фасоли и вигны с характеристикой образцов по содержанию белка и метионина в семенах” – 1987.

- |     |   |     |  |
|-----|---|-----|--|
| 60. | “Перечень образцов вики посевной с высоким качеством семян и зеленой массы” – Перечень-каталог. 1987.                 | 1,5 | Бенкен И. И.<br>и др.                        |
| 61. | “Перечень образцов фасоли и вигны с характеристикой содержания белка и метионина в семенах” – Перечень-каталог. 1986. | 6,3 | Комаров В. И.<br>Буданова В. И.              |
| 62. | “Люпин белый (биохимическая характеристика образцов)”–Вып.496. 1989.  | 3,2 | Бенкен И. И.<br>Лавринова В. И.<br>и др.     |
| 63. | “Чечевица (характеристика качества семян и хозяйственных признаков)” – Вып.516. 1989.                                 | 1,0 | Волузнева Т. А.<br>Прорешнева Р. К.<br>и др. |
| 64. | “Люпин (биохимическая характеристика образцов)” – Вып.568. 1991.  | 3,0 | Курлович Б. С.<br>и др.                      |

## 10. СПИСОК

научных учреждений и лабораторий, с которыми отдел молекулярной биологии вел комплексные исследования по молекулярно-генетическим основам морфогенеза культурных растений в связи с вопросами прикладной ботаники, генетики и селекции культурных растений и проблемам качества урожая с.-х. культур.

1. Отделы растительных ресурсов ВИР (отдел пшениц, отдел серых хлебов, отдел бобовых, отдел кукурузы и крупяных культур, отдел генетики, лаборатория картофеля, лаборатория технологической оценки) – Вопросы эволюции, происхождения и генетики культурных растений.
2. Отдел биохимии и цитохимии Башкирского филиала АН СССР – Молекулярно-генетические основы гетерозиса.
3. Кафедра биохимии Башкирского гос. университета – Биохимия и генетика запасных белков растений.
4. Всесоюзный институт защиты растений – Биохимические и молекулярно-генетические основы иммунитета.
5. Кафедра биохимии Ленинградского гос. университета – Специфичность белков хромосом.
6. Северо-Западный научно-исследовательский исследовательский институт сельского хозяйства – Вопросы наследования белка и лизина в образцах зерновых культур.
7. Институт экспериментальной биологии АН ЭССР – Идентификация и регистрация химических мутантов пшеницы по белкам зерна.
8. Грузинский научно-исследовательский институт земледелия – Генетический и филогенетический анализ пшениц Закавказья по белкам зерна.
9. Алтайский НИИСХ – Использование белков-маркеров в анализе исходного и селекционного материала пшениц.
10. Госкомиссия по сортоиспытанию с.-х. культур при МСХ СССР – Использование способа сортовой идентификации и регистрации сортов в селекции и семеноводстве.
11. Воронежский сельскохозяйственный институт – Генетика и филогенетика подсолнечника по белкам семян.
12. Краснодарский НИИСХ – Влияние уровня азотного питания на компонентный состав глиаина пшениц.
13. Владивостокский институт советской торговли – Разработка серологических методов оценки качества белка сои.

14. Минский гос. университет – Геномный анализ диких сородичей пшеницы по белкам-маркерам.
15. Саратовский НИИСХ Юго-Востока – Использование белковых маркеров в селекции пшеницы на качество зерна.
16. Мироновский НИИ селекции – Использование белков-маркеров в оценке исходного и селекционного материала пшеницы.
17. ВНИИ зерна и продуктов его переработки – Изучение компонентного состава запасных белков в связи с вопросами качества клейковины пшеницы.
18. Кубанская опытная станция ВИР – Анализ исходного и селекционного материала кукурузы по зеину в связи с селекцией на белок.
19. Одесский технологический институт пищевой промышленности – Разработка экспресс-метода обнаружения повреждения зерна и муки черепашкой.
20. ВНИИ зернобобовых и крупяных культур – Изучение мировой коллекции гороха на качество белка.
21. Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева – Образование белков в созревающем зерне пшеницы.
22. Черновицкий гос. университет – Изучение аминокислотного состава видов пшеницы.
23. Институт биологии Якутского филиала АН СССР – Лаборатория белка и НК – Нуклеиновые кислоты и запасные белки пшеницы.
24. Сибирский ботанический сад СО АН СССР – Вопросы филогении астрагалов по белкам семян.
25. Институт ботаники АН КазССР – Изучение состава зерна у вновь создаваемых мутантов и гибридов пшеницы.
26. Московское отделение ВИР – Выявление и регистрация радиомутантов пшеницы по белкам зерна.
27. Ленинградский институт советской торговли им. Ф. Энгельса – Изучение аминокислотного состава муки и продуктов помола.
28. Краснодарский сельскохозяйственный институт – лаборатория биохимии – Влияние минерального питания на качество урожая.
29. Ленинградский мельничный комбинат им. С. М. Кирова – Оценка и сортовая идентификация партий зерна.
30. Кинельская опытная станция – Изучение условий возделывания пшеницы на качество белка.
31. Азербайджанский НИИ земледелия – Изучение вопросов наследования белка и лизина в зерне ячменя, межвидовых гибридах.

32. ВНИИ зернового хозяйства (Шортанды) – Белковые маркеры в регистрации генофонда твердой пшеницы (1979-1983 гг.).
33. Институт физиологии растений АН УССР – Идентификация химических мутантов пшеницы по электрофоретическим спектрам проламина зерна (1980-1987 гг.).
34. ВНИИ масличных культур, г. Краснодар – Идентификация и регистрация линий, гибридов и сортов подсолнечника по белкам семян.
35. ВНИИ сахарной свеклы, г. Киев – Белковые маркеры в идентификации селекционных материалов сахарной свеклы.
36. ВНИИ льна – Поиск белковых маркеров для регистрации генетических ресурсов льна (1991 г.).
37. ВНПО чая – Идентификация самоклональных вариантов чая по белковым маркерам (1991 г.)
38. ВНИИ сои – Идентификация отдаленных гибридов сои по белкам семян (1991 г.).
39. НИИ садоводства Сибири им. М. А. Лисавенко, г. Барнаул – Изучение белков облепихи и использование их как маркеров в сортовой идентификации и регистрации генетических ресурсов культуры (1991-1993 гг.).
40. С.-Петербургский аграрный университет – Разработка принципов и методов использования белковых маркеров для совершенствования первичного семеноводства зерновых культур (1989-1997 гг.).
41. НПО “Масложирпром” – Изучение качества семян амаранта в целях возможного их использования для пищевых целей (1991-1997 гг.).
42. НИИСХ Северного Зауралья, г. Тюмень – Изучение и контроль по спектрам проламина зерна внутрисортного состава пшеницы, овса, ячменя в процессе семеноводства (1991-1997 гг.).
43. НПО “Нива Ставрополя”, Ставропольский НИИСХ – Изучение биохимических свойств тритикале, ржи, пшенично-ржано-пырейных гибридов, сорго. Оценка на содержание белка и питательная ценность (1985-1990 гг.).
44. ВНИИ жиров – Изучение белкового комплекса семян люпина пищевых сортов и продуктов их переработки (1991-1996 гг.).
45. Северо-Кавказский НИИ горного луговодства – Исследование аминокислотного состава дикорастущих форм лугового клевера Северной Осетии (1991 г.).

46. Памирский биологический институт – Влияние условий возделывания на содержание и качество белка нута и гороха в Таджикистане (1991-1992 гг.).
47. Самаркандский СХИ – Содержание белка и лизина в образцах кормовой пшеницы и ячменя (1991 г.).
48. Таджикский НИИ земледелия – Накопление белка и лизина в коллекционных образцах тритикале в условиях Таджикистана (1991 г.)
49. Канада, Университет Манитоба, факультет агрономии – В. Бушук – Анализ геномного состава тетраплоидных производных сортов мягкой пшеницы по белкам зерна.
50. ФРГ, лаборатория химии зерна – проф. Фишбек – Использование белков-маркеров в изучении анеуплоидных линий пшеницы.
51. Польша, Институт генетики АН – Разработка методов идентификации и регистрации генетических ресурсов бобовых (1983, 1986-1990 гг.).
52. Чехо-Словакия, НИИ селекции зерновых культур, г. Кромержиж – Комплексное изучение и выделение источников для селекции зерновых культур (1988-1994 гг.).
53. Болгария, Институт генетики АН – Молекулярное маркирование генетических систем рода *Helianthus* L. с целью идентификации генетического материала дикорастущих видов в генотипах отдаленных гибридов подсолнечника (1989-1992 гг.).
54. США, Университет штата Айова – Изучение видового разнообразия новой культуры куфии по белкам семян (1991-1993 гг.).
55. ФРГ, Институт генетики устойчивости – Изучение генетического разнообразия ячменей с использованием ДНК и белковых маркеров (1993-1995 гг.).
56. ФРГ, Генбанк Гатерслебена – Изучение полипептидного состава семян *Lupinus albus* L. различного происхождения (1995 г.).
57. Англия, Бристольский университет, Исследовательская станция в Лонг-Эшtone – Изучение 2S альбумина подсолнечника и его генетический контроль (1992- 1997 гг.).

III. МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ  
ГЕНОФОНДА КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ в 1997-2007 гг. (В СВЯЗИ С  
СОРОКАЛЕТИЕМ ОТДЕЛА МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ ВИР)

В 1997 году на базе отделов молекулярной биологии и биохимии, а также лаборатории технологической оценки был образован отдел биохимии и молекулярной биологии. Сохранение и дальнейшее развитие научного направления отдела молекулярной биологии стало заботой нового коллектива под руководством профессора А. В. Конарева. За прошедшие 10 лет (1997-2007 гг.) отделу биохимии и молекулярной биологии удалось сохранить научный коллектив и соответствующий уровень экспериментальных работ, а также в значительной мере продвинуть внедрение в растениеводство страны (в семеноводство и семенной контроль) разработанные и усовершенствованные в прежние годы отделом методы сортовой идентификации. За это время сотрудникам отдела удалось провести ряд фундаментальных исследований (в плане работ отдела) в зарубежных лабораториях. Короче говоря, несмотря ни на что, работа продолжается – защищают диссертации аспиранты, издаются сборники, выходят статьи в отечественных и зарубежных журналах, сотрудники и аспиранты выступают с докладами на российских и международных совещаниях, участвуют в международных научных проектах. Всего за период с 1997-2007 гг. опубликовано около 300 работ, из них более 50 – в зарубежных изданиях. Прочитано 120 докладов. Защищено 8 диссертаций.

Здесь (см. также сайт ВИР: [www.vir.nw.ru](http://www.vir.nw.ru) – публикации) приведены наиболее значимые публикации отдела биохимии и молекулярной биологии за 1997-2006 гг.:

*«Молекулярно-биологические исследования генофонда культурных растений в ВИРе (1967-1997 гг.)»* (Конарев В. Г., СПб., 1998, 100 с.).

*«Использование молекулярных маркеров в работе с генетическими ресурсами растений»* (Конарев А. В., С.-х. биология, 1998, № 5, 23 с.).

*«Генетическая коллекция овощных растений»* (Артемьева А. М., Фарбер С. П., сб. Ч. 2, СПб.: ВИР, 1999).

*«Идентификация сортов и регистрация генофонда культурных растений по белкам семян»* (Конарев В. Г. и др., СПб.: ВИР, 2000, 186 с.).

*«Белковые маркеры в решении проблем генетических ресурсов растений, селекции и семеноводства»* (Конарев А. В., Конарев В. Г., Губарева Н. К., Пенева Т. И., Цитология и генетика, № 2, 2000).

В 2002-2006 гг. вышли в свет четыре тематических выпуска журнала «Аграрная Россия», в которых обобщены результаты молекулярно-

биологических, молекулярно-генетических и биохимических исследований отдела биохимии и молекулярной биологии ВИР им. Н. И. Вавилова:

– *«Молекулярные маркеры в решении проблем генетических ресурсов растений и селекции»* (под ред. Конарева А. В.), Аграрная Россия, № 3, 2002, 68 с.

– *«Молекулярно-генетические подходы в растениеводстве. Часть I»* (под ред. Конарева А. В.), Аграрная Россия, № 6, 2004, 58 с.

– *«Молекулярно-генетические подходы в растениеводстве. Часть II»* – (под ред. Конарева А. В.), Аграрная Россия, № 2, 2005, 56 с.

– *«Биохимические и молекулярно-биологические подходы к изучению генетических ресурсов растений»* (под ред. Конарева А. В.), Аграрная Россия, № 6, 2006, 60 с.

*«Биохимические исследования генетических ресурсов в ВИРе»* (Конарев А. В., Хорева В. И., СПб., 2000, 65с.).

*«Биохимические качества овощной продукции»* В кн.: *«Улучшение качества картофеля и овощей»* (Соловьева А. Е. СПб.: Мин. с.-х. РФ, Комитет по с.-х. Правительства Лен. обл., ТАСИС проект ФДРУС 9704, 2001).

Сб.: *«Селекция, семеноводство и возделывание полевых культур»* (Митрофанова О. П., Стрельченко П. П.; Зеленская Я. Г., Конарев А. В., Лоскутов И. Г., Губарева Н. К., доклады на Международной научно-практической конференции, Ростов-на-Дону, 2004. Изд. Ростов-на-Дону, 2004).

*«Методика проведения сортового контроля по группам с.-х. растений»* (Поморцев А. А., Конарев В. Г., Конарев А. В., Гаврилюк И. П., Губарева Н. К., Пенева Т. И., Сидорова В. В., Фарбер С. П. и др., Москва, ФГНУ «Росинформагротех», 2004, 96 с).

*«Полиморфизм и наследование запасного белка семян у подсолнечника»* (Анисимова И.Н., Гаврилова В.А., Лоскутов А.В., Рожкова В.Т., Толмачев В.В., Генетика, № 9, 2004).

*«Молекулярные маркеры в исследованиях генетического разнообразия подсолнечника»*, глава в книге: *«Идентификация генофонда и селекция растений»* (Анисимова И. Н., СПб.: ВИР, 2005, 23 с).

Выпущены брошюры, опубликованы статьи, посвященные памяти выдающихся ученых-биохимиков ВИРа:

*«Василий Григорьевич Конарев. Биобиблиография деятелей науки»* (СПб.: ВИР, 2000, 56 с.).



*«Основатель отечественной биохимии культурных растений – Иванов Николай Николаевич».* К 120-летию со дня рождения (Ярош Н. П., Конарев А. В., Аграрная Россия, № 2, 2005).

*«Александр Иванович Ермаков (1905-1987)»* (Ярош Н. П., Низова Г. К., Хорева В. И. Из серии «Люди науки», СПб, ВИР, 2005).

*«Вклад А. И. Ермакова в изучение генофонда культурных растений».* К 100-летию со дня рождения (Ярош Н. П., Конарев А. В., Низова Г. К., Хорева В. И., Аграрная Россия, №6, 2006).

Были изданы монографии и книги:

*«Морфогенез и молекулярно-биологический анализ растений»* (Конарев В. Г., СПб.: ВИР, 1998, 375 с.).

*«Морфогенез и молекулярно-биологический анализ растений»* (Конарев В. Г., изд. 2, доп., СПб.: ВИР, 2001, 417 с.).

*«Молекулярная биология в познании генетических и морфогенетических процессов у растений»* (Конарев В. Г., СПб.: РАСХН, ГНЦ РФ, ВНИИР, 2002, 50 с.).

*«Генетика культурных растений. Подсолнечник»* (Гаврилова В. А., Анисимова И. Н., СПб.: ВИР, 2003, 186 с.).

*«Научная биография. С воспоминаниями о прошлом»* (Конарев В. Г., СПб., 2004, 157 с.).

Результаты работ по изучению генофонда культурных растений и их диких сородичей опубликованы в виде методических указаний и каталогов образцов мировой коллекции ВИР. За 1997-2006 гг. опубликовано 20 каталогов. Исследования по изучению биохимических свойств и показателей качества охватывают не только широко распространенные культуры, но и редкие, еще мало изученные (см. Приложение 1).

Сотрудники отдела продолжили свое участие в разработке стандартных арбитражных методов идентификации сортов различных культурных растений для включения в российские и Международные правила семенного контроля.

В феврале 2001 года на заседании бюро Отделения растениеводства были обсуждены доклады д. б. н., проф. Конарева А. В. (ВИР) и к. б. н. Поморцева А. А. (ИОГен РАН) о целесообразности использования белковых маркеров с целью идентификации элитных и сортовых семян с.-х. культур. В заседании приняли участие руководители и специалисты ряда ведущих селекционных центров и научных учреждений РАСХН и РАН, а также Госсеминаспекции РФ и Государственной комиссии РФ по испытанию и охране селекционных достижений.

## ВЫПИСКА ИЗ ПРОТОКОЛА № 2

Заседания бюро Отделения растениеводства

г. Москва

28 февраля 2001 г.

СЛУШАЛИ: д. б. н. Конарева А. В. и к. б. н. Поморцева А. А. о возможности использования белковых маркеров с целью идентификации элитных и сортовых семян сельскохозяйственных культур.

### ПОСТАНОВИЛИ:

1. Поручить кураторам Отделения растениеводства, начиная с 2001 г., пересмотреть тематику НИР в рамках выделенных ассигнований, с целью включения в тематические планы селекционных центров использование методов электрофореза запасных белков в процессе селекции и семеноводстве, а также для определения сортовых качеств семян.

**2. Считать головными научно-методическими центрами по использованию методов белковых маркеров отдел биохимии и молекулярной биологии ВИР им. Н. И. Вавилова и лабораторию генетики растений ИОГен им. Н. И. Вавилова, аккредитованную в Системе сертификации семян.**

Головным научно-методическим центрам и НИУ представить в бюро Отделения и Госсеминспекцию стандартные методы электрофоретического анализа для утверждения.

Головным научно-методическим центрам подготовить совместно с отраслевыми институтами и Государственной семенной инспекцией проекты отраслевых стандартов и нормативов на определение сортовых качеств семян с использованием электрофореза (методы, допустимые примеси, документация, порядок предоставления материалов и анализ).

Головным научно-методическим центрам создать компьютерные базы данных белковых спектров для сортов всех культур.

3. Головным научно-методическим центрам до 15.04.2001 г. представить согласованный с Департаментом растениеводства МСХ РФ и Государственной семенной инспекцией РФ график проведения школ, курсов, семинаров по подготовке специалистов, для уже существующих или вновь создаваемых лабораторий.

4. Руководителям НИУ (перечень институтов см. приложение) по согласованию с семенными инспекциями утвердить графики проведения

курсов апробаторов и представить их в Отделение растениеводства до 1.05.2001 г.

5. Руководителям НИУ и селекционных центров Отделения растениеводства в срок до 1.07.2001 г. создать лаборатории по использованию методов белковых маркеров, укомплектовать их штатами и необходимым оборудованием, определить территории и наименование культур, по которым будут проводиться анализы, аккредитовав лаборатории в Государственной семенной инспекции.

В случае объективных причин, не позволяющих выполнить указанное постановление или отдельные его пункты, представить мотивированные предложения.

6. ВИР совместно с ВИК до 15.05.2001 г. внести предложения по использованию методов электрофоретического анализа для определения сортовых качеств семян кормовых культур.

7. Просить Государственную комиссию РФ по испытанию и охране селекционных достижений (Шмаль В. В.) предоставлять:

– в ВИР эталонные образцы семян сортов всех сельскохозяйственных культур, допущенных к использованию для хранения в коллекции ВИРа и для создания компьютерной базы данных белковых спектров;

– в ИОГен эталонные образцы семян сортов пшеницы и ячменя для создания компьютерной базы данных белковых спектров.

Вице-президент,  
академик РАСХН

А. А. Жученко

Ученый секретарь, д. б. н.

И. В. Савченко

В 2002 г. Госсеминаспекцией России утверждены разработанные в ГНЦ РФ ВИР им. Н.И. Вавилова **стандартные методики электрофореза запасных белков для идентификации двудольных растений, сортов и линий ржи, а также семян кукурузы.** В ВИР и ряде других НИУ Министерством сельского хозяйства РФ аккредитованы «Испытательные лаборатории (ИЛ) по оценке сортовой принадлежности и сортовой чистоты методом электрофореза» (см. Приложение 2 к аттестату аккредитации ИЛ ВИР).

«Электронный белковый паспорт культурных растений», а также программное обеспечение для управления базами паспортных данных,

основанных на спектрах белков разработаны Алпатьевой Н. В. совместно с Лебедевой Е. Г., Разореновой Т. С. и др. Работа получила высокую оценку на первой национальной конференции «Информационно-вычислительные технологии в решении фундаментальных научных проблем и прикладных задач химии, биологии, фармацевтики, медицины», Москва, 2002.

В публикациях Конарева А. В.: *«Использование молекулярных маркеров в работе с генетическими ресурсами растений»* (Сельскохозяйственная биология, 1998, № 5), *«Адаптивный характер молекулярного полиморфизма и его использование в решении проблем генетических ресурсов растений и селекции»* (Аграрная Россия, №3, 2002) дан подробный анализ преимуществ и недостатков разных молекулярных маркерных систем. Показан адаптивный характер полиморфизма важнейших белковых систем (в частности запасных белков семян), который в совокупности с соответствующей системой записи и обработки данных по электрофорезу белков, позволяет надежно фиксировать изменения в генотипическом составе в различных условиях окружающей среды. В ВИР используется система записи спектров, основанная на эталонном спектре культуры или группы культур. Подчеркивается, что наиболее эффективные белковые маркерные системы отобраны среди множества разнообразных белков в результате многолетнего биохимического и генетического изучения генофондов культур.

Проблема различимости сортов особенно остро встала перед UPOV (Международный союз по охране новых сортов), а теперь и перед Госкомиссией РФ по охране селекционных достижений с появлением большого числа сортов, имеющих минимальные генетические отличия. В ряде случаев такие сорта могут быть неразличимы и стандартными методами белкового анализа. В ВИР для этих целей, кроме запасных белков семян, успешно применяют другие белковые маркеры, например, ингибиторы протеолитических ферментов. К решению таких проблем активно привлекаются ДНК-маркеры.

Предлагаемые в ряде работ методы идентификации с использованием молекулярных маркеров часто не вполне отвечают требованиям, которые предъявляются к стандартным методикам. Для каждой культуры необходимо подбирать оптимальные маркерные системы, что требует кропотливой работы **на базе генетического разнообразия культуры**. О том, как решаются эти проблемы в ВИР см. подробнее: *«Использование молекулярных маркеров в решении проблем*

*генетических ресурсов растений и селекции»* – Коначев А. В. (Аграрная Россия, №6, 2006). В этой же публикации приведены сведения об основных достижениях отдела молекулярной биологии ВИР в области фундаментальных и прикладных исследований генетических ресурсов растений, развитии методов селекции и семенного контроля с использованием молекулярных маркеров (белковых и ДНК). Приведена таблица с результатами деятельности ВИР по изучению и регистрации ГРР с использованием спектров белков семян.

Сотрудники отдела активно участвовали в международных научных проектах, по результатам которых были подготовлены публикации и сделаны доклады:

Коначев А. В.; Стрельченко П. П., (2 доклада) (ВИР-INRA), Российско-Французское рабочее совещание. СПб., ВИР, 16-20 июля 2001.

Коначев А. В.; Стрельченко П. П., (2 доклада) 2-е PEN/GIB (Россия-Италия) рабочее совещание. СПб., 5-6 октября 2001.

Совместно с зарубежными учеными по проектам ВИР – INRA (Франция) и ВИР – ICARDA (Международный центр ГРР, Сирия) проведена работа по изучению генетических ресурсов мягкой пшеницы с использованием ДНК-маркеров. По результатам исследования опубликованы статьи:

*«Генетическая дифференциация евразийского подвида мягкой пшеницы по данным RAPD-анализа»* (Стрельченко П. П., Митрофанова О. П., Малышев Л. Л., Коначев А. В., Терами Ф., Аграрная Россия, №3, 2002).

*«Сравнение возможностей RAPD-, AFLP- и SSR-маркеров для различения местных сортов гексаплоидных пшениц»* (Стрельченко П. П., Митрофанова О. П., Коначев А. В., Аграрная Россия, №6, 2004).

*«Структура генетических взаимосвязей между местными сортами гексаплоидных пшениц по данным RAPD-, AFLP- и SSR-анализов»* (Митрофанова О. П., Стрельченко П. П., Коначев А. В., Аграрная Россия, №6, 2004).

*«A worldwide bread wheat core collection arrayed in a 384-well plate»* (Balfourier F., Roussel M., Strelchenko P., Exbrayat-Vinson F., Sourdille P., Boutet G., Koenig J., Ravel C., Mitrofanova O., Beckert M., Charmet G., Theor. Appl. Genet., 2007, published online).

**Наиболее значимые результаты работ за 1997-2007 гг.**

Генофонд евразийского подвида мягкой пшеницы (148 сортов) охарактеризовали методом RAPD-анализа (П.П.Стрельченко и др., Аграрная Россия, №3, 2002). Для первичного скрининга было использовано 700 праймеров. Из них только 28 выявляли полиморфизм у изучаемого набора сортов. Анализ RAPD-спектров выявил, что каждый сорт мягкой пшеницы был уникальным по составу компонентов. Для классификации изученных сортов по степени их генетического сходства применили методы многомерной статистики. Анализ полученных RAPD-спектров показал, что по степени выявленного сходства сорта пшениц объединились в три основные группы. Внутри каждой выделены подгруппы, из которых некоторые соответствовали определенным агроэкологическим группам пшеницы.

В другой работе Стрельченко П. П. с соавторами (Аграрная Россия, №6, 2004) показали, что использованные в работе типы ДНК-маркеров (RAPD-, AFLP- и SSR-маркеры) продемонстрировали приблизительно равные возможности для различения местных сортов гексаплоидных пшениц. Установлено, что классификация, построенная на основе анализа набора ДНК-маркеров с применением разных методов многомерной статистики для классификационных построений, точнее выявляет генетическую дифференциацию комплекса гексаплоидных пшениц. RAPD метод прост в исполнении, но хуже воспроизводится; AFLP – анализ более трудоемкий, дорогой и зачастую плохо интерпретируется; SSR-анализ методически достаточно сложен, но эффективен в различении местных сортов пшеницы.

В Институте генетики и селекции растений (Гатерслебен, Германия) с использованием микросателлитных маркеров (SSR-) изучили генетическую целостность восьми образцов мягкой пшеницы из коллекции генбанка этого института, пересевавшихся течение 50 и более лет от 5 до 24 раз. Изменения зафиксированы только у одного образца. Результаты, полученные в нашем отделе с использованием спектров глиаина, подтвердили вывод о высокой в целом генетической стабильности репродуцируемых в Гатерслебене образцов. Кроме того, были выявлены изменения в биотипном составе репродукций других образцов (на уровне минорных биотипов), что показывает целесообразность применения разных маркерных технологий, взаимно дополняющих друг друга. *«Анализ генетической стабильности образцов коллекции мягкой пшеницы в процессе многолетнего поддержания путем многократных репродукций»* (Конарев А. В., Губарева Н. К., Корнюхин Д. Л., Бернер А., Аграрная

Россия, №6, 2004). «*Gliadin electrophoretic analysis of the genetic integrity of wheat (*Triticum aestivum* L.) accessions after frequent seed reproductions*» (Konarev A., Gubareva N., Kornuchin D., Boerner A., Genetic Resources and Crop Evolution, V. 52, 2005).

Методом SDS-электрофореза показан полиморфизм высокомолекулярного глютеина стародавних сортов озимой мягкой пшеницы. Электрофоретический анализ глютеинов служит как дополнительный критерий для идентификации сортов и биотипов пшеницы, идентичных по спектру глиаина. Поскольку глютеин играет значительную роль в формировании хлебопекарных качеств пшеницы, он может быть использован для отбора генотипов с высокими показателями хлебопекарных качеств. «*Характеристика староместных сортов озимой мягкой пшеницы по электрофоретическим спектрам высокомолекулярного глютеина*» (Алпатьева Н. В., Губарева Н. К., Аграрная Россия, №3, 2002).

Анализ электрофоретических спектров глиаина 280 сортов озимой мягкой пшеницы с различным уровнем морозостойкости показал возможность использования белковых маркеров для определения потенциальной морозостойкости в пределах конкретных групп селекции. Для этого достаточно знать белковую формулу генотипа морозостойкого сорта, который явился источником этого признака в ходе селекции. Это дает возможность вести контроль за включением генетического материала морозостойкого сорта во вновь создаваемые сорта. «*К вопросу об использовании белковых маркеров в оценке морозостойкости озимой мягкой пшеницы*» (Губарева Н. К., Алпатьева Н. В., Аграрная Россия, №3, 2002).

Дифференциация генофонда пшеницы спельта из коллекции ВИР была изучена с использованием полиморфизма по локусам глиаина. Удалось выявить не только хорошее совпадение генетической группировки образцов с основными эколого-географическими группами спельты, но и предложить более детальную дифференциацию генофонда культуры. (Романова Ю. А., Губарева Н. К., Конарев А. В. и др., Генетика, Т.37, №9, 2001).

Генофонд пшеницы *T. compactum* (285 образцов различного эколого-географического происхождения из центров максимальной концентрации разнообразия этого вида – Турция, Афганистан, Армения) изучили по спектрам глиаина. Анализ данных выявил не только значительный полиморфизм по спектрам этого белка, но и высокую степень специфичности (оригинальности) спектров. Выявлено 325 типов спектра

глиадина. Часть образцов (127) идентифицированы как мономорфные (один специфический тип спектра глиадина). Выявлены группы образцов с идентичными или очень близкими типами спектра глиадина, являющиеся, возможно дублетными или генетически близкими. Так среди 130 образцов из Турции выявлено 20 таких групп. Близки по спектрам образцы из Афганистана и Ирака; Армении и Израиля; Китая, Монголии и Якутии. Изучение коллекции реликтовых видов, к которым относится *T. compactum*, по белковым маркерам дает возможность познать генотипическую структуру образцов коллекции, выявить новые генотипы, которые могут быть использованы в селекции. (Н. К. Губарева, Н. М. Мартыненко).

В 1997-2006 гг. Т.И. Пеновой были продолжены исследования полиморфизма секалина – запасного белка семени ржи. Полученные результаты подтвердили эффективность использования белковых маркеров (секалина) в селекционном процессе и работе с генофондом ржи.

В селекции короткостебельных сортов ржи, а именно сорта Ильмень, целенаправленно шел отбор короткостебельных растений (с донором короткостебельности ЕМ1), которые скрещивали затем с высокорослыми. По спектрам секалина было показано, что этот процесс сопровождался снижением уровня популяционного полиморфизма, а это в свою очередь приводило к снижению продуктивности, адаптивности и других ценных признаков. Таким образом, молекулярные (белковые) маркеры могут служить эффективными инструментами при сопровождении селекционного процесса (Пенева Т. И., Конарев В. Г., Кобылянский В. Д., Лапиков Н. С., С.-х. биология, №1, 1998).

Проведена регистрация в виде белковых формул внутрипопуляционной структуры образцов коллекции иммунной ржи. Это позволило выявить особенности популяций дикой ржи, отобранных по устойчивости к ржавчине и мучнистой росе, определить состав и соотношение генотипов у источников и доноров комплексного иммунитета, а также показать динамику популяций при переходе от диких форм к культурным. Полученные данные имеют значение не только для практической селекции, но представляют интерес для популяционной и частной генетики злаков.

Набор сортов озимой мягкой пшеницы из коллекции ВИР, несущих хроматин 1R ржи, а также пшенично-ржаные гибриды из Германии (источники генетического материала ржи для этих сортов) послужили объектами исследований с целью выяснения степени генетической



стабильности образцов генетической коллекции. Анализ электрофоретических спектров глиаина и глютеина пшенично-ржаных гибридов показал во всех сортах наличие одинаковой группы компонентов, характерной для спектров секалина ржи и контролируемых хромосомой 1R. В процессе репродукции может происходить элиминация материала хромосомы 1R ржи или структурные перестройки хромосом пшеницы и ржи, что может быть выявлено с использованием маркерных компонентов, характерных для хромосомы 1R. *«Белковые маркеры в анализе генетической стабильности сортов пшеницы, содержащих хроматин 1R ржи»* (Пенева Т. И., Митрофанова О. П., Конарев А. В., Аграрная Россия, №3, 2002).

Возможности использования белкового полиморфизма могут быть реализованы при изучении эффекта гетерозиса. По данным Т. И. Пеновой, у сортов и линий ржи, дающих при скрещивании гибриды F<sub>1</sub> с высоким эффектом гетерозиса, имеется большое число несовпадающих типов спектра, а при одинаковых типах спектра обнаружены большие различия в частотах их встречаемости.

Анализ большого числа сортов и линий ржи по типам спектра проламинов позволил выявить группы сортов и линий, дающих при скрещивании эффекты гетерозиса – от максимального до невысокого, но стабильного.

Ранее В. В. Сидоровой на основе анализа большого числа линий, сортов и гибридов кукурузы отечественной и зарубежной селекции также было установлено, что наибольший гетерозисный эффект достигается при скрещивании линий, имеющих максимальные отличия по электрофоретическим спектрам зеина (см. ниже). Связь эффекта гетерозиса с числом специфических компонентов проламина у родительских линий была показана также в работах отдела для сорго.

Таким образом, анализируя скрытую генетическую изменчивость, можно не только контролировать состав популяций в ходе искусственного отбора, семеноводства, влияния среды и т. д., но и, основываясь на основных положениях популяционной генетики, вскрывать причины тех или иных явлений, указывать способы решения и предсказывать практически важные селекционные последствия для разных культур.

Видовое разнообразие овса (74 образца, относящихся к 20 видам различного уровня ploидности) изучили RAPD-анализом. Из 113 праймеров отобрали 15, пригодных для изучения межвидовых отношений. Показаны возможности метода для установления степени родства между

видами овса с различным геномным составом и уровнем ploидности. Выявлены фрагменты ДНК, которые могут быть использованы в качестве маркеров А, В и С геномов. Показан высокий уровень полиморфизма по спектрам для диплоидных видов. Менее полиморфными оказались полиплоидные (тетра- и гексаплоидные) виды. Найдены образцы с идентичными ДНК-спектрами. Полученные данные подтвердили систему классификации овса, принятую в ВИР. «*Interspecies variability of oats by RAPD markers*» (Perchuk I.N., Okuno K., Loskutov I.G., Ebana K. Proc. XVI International Botanical Congress, USA, 1999.). «*Изучение видового разнообразия овса с использованием RAPD-анализа*» (Перчук И. Н., Лоскутов И. Г., Окуно К., Аграрная Россия №3, 2002).

Полиморфизм авенина – запасного белка зерна овса изучали на внутривидовом и внутривидовом разнообразии старо-местных форм овса посевного из коллекции ВИР. Выявленный высокий полиморфизм этих образцов по спектрам авенина подтверждает соответствующий уровень генетического разнообразия старо-местных сортов овса и их ценность как исходного материала для селекции. Составлен электронный каталог белковых формул. Регистрация генофонда по спектрам авенина поможет надежнее сохранить все разнообразие старо-местных образцов посевного овса. Установлено, что в процессе репродукции образцов овса встречаемость биотипов и их состав могут меняться, что приводит к потере оригинальности и, возможно, к утрате ценных хозяйственных и биологических свойств. Спектры авенина использовали для классификации генофонда овса. «*Характеристика старо-местных форм овса посевного (Avena Sativa L.) из коллекции ВИР по полиморфизму авенина*» (Зеленская Я. Г., Конарев А. В., Лоскутов И. Г., Губарева Н. К., Стрельченко П. П., Аграрная Россия, №6, 2004).

К настоящему времени паспортизация семян подсолнечника проведена для большинства инбредных линий из коллекции ВИР (300 инбредных линий разного происхождения), а также для 50 сортов и сортов-гибридов и 100 образцов дикорастущих видов. Наряду со спектрами гелиантина, в качестве дополнительного признака идентификации генотипа, использовали спектры 2S альбуминов и изоферментов. Сочетание методов электрофореза гелиантина, альбуминов и изоферментов позволило увеличить число анализируемых полиморфных локусов и расширить возможности для идентификации генотипов подсолнечника. В практике электрофорез гелиантина используют для идентификации генотипов инбредных линий, определения

их генетической чистоты и оценки гибридности семян. Дополнительные возможности для характеристики селекционного материала, оценки межвидовых и межпопуляционных генетических расстояний, а также родственных связей появились с применением ДНК-маркеров. «Идентификация генетического и селекционного материала подсолнечника по белкам семян» (Анисимова И. Н., Аграрная Россия, №3, 2002).

Серия отечественных и зарубежных публикаций Конарева Ал. В. (1997-2006) посвящена результатам его работ с ингибиторами амилаз и протеиназ как генетическими маркерами при решении задач селекции, семеноводства, систематики и эволюции растений и как факторами устойчивости растений к насекомым вредителям. Показано, что состав ингибиторов амилаз и протеиназ отражает различные уровни разнообразия растений – от биотипов до родов и даже триб. Ингибиторы, будучи маркерами различных генетических систем, одновременно являются и носителями важных биологических и хозяйственных признаков. Наличие определенных компонентов сопряжено с повышенным уровнем активности ингибиторов пищеварительных ферментов насекомых. «Ингибиторы ферментов как генетические маркеры» (Конарев Ал. В., Аграрная Россия, №3, 2002). «*Serine proteinase inhibitors in Compositae: distribution, polymorphism and properties*» (Konarev Al. V., Anisimova I. N., Gavrilova V. A. et al., *Phytochemistry*, 59, 2002).

Методом электрофореза запасного белка кукурузы – зеина проанализировано более 200 линий кукурузы из коллекции ВИР, а также селекционных учреждений России, Украины и Молдавии. Метод позволяет идентифицировать инбредные линии и сорта кукурузы, осуществлять контроль за однородностью линий и степенью гибридности при получении гибридных семян. На основе анализа большого числа линий, сортов и гибридов кукурузы установлено, что наибольший гетерозисный эффект достигается при скрещивании линий, имеющих максимальные отличия по электрофоретическим спектрам зеина. Полученные данные демонстрируют возможности белковых маркеров в повышении эффективности гибридной (гетерозисной) селекции и способствуют оптимальному подбору родительских пар для достижения высокого эффекта гетерозиса. «Использование электрофоретического спектра зеина для прогнозирования гетерозиса у кукурузы» (Сидорова В.В., Конарев А. В., Матвеева Г. В., Тимофеева Г. И., Аграрная Россия, №6, 2004).

В семенах крестоцветных выявлены два основных типа запасных белков: 2S альбумин и 12S глобулин (круциферин). Главный запасной белок семян – круциферин характеризуется молекулярно-генетической изменчивостью. Фарбер С. П. изучила полиморфизм круциферина и возможность его использования для идентификации геномов и видов, а также селекционного материала (сортов и линий) наиболее важных в экономическом отношении представителей рода *Brassica* L. По результатам электрофоретического анализа более 300 образцов различных видов рода *Brassica* L. установлено, что представители каждого генома характеризуются определенным составом полипептидов. Это позволило осуществить геномную идентификацию по данному признаку. По составу генетических вариантов круциферина маркированы линии, а также идентифицированы сортовые и гибридные популяции. Обязательное условие для успешной идентификации и регистрации сортов по полипептидному составу круциферина – индивидуальный подход к каждой культуре. «*Полиморфизм основного запасного белка семян видов рода Brassica L.*» (Фарбер С. П., Артемьева А. М., Сельскохозяйственная биология, № 5, 2000). «*Идентификация овощных крестоцветных по запасным белкам семян*» (Фарбер С. П., Аграрная Россия, №3, 2002).

Большинство кормовых злаковых трав – перекрестноопыляющиеся культуры, что крайне усложняет все этапы селекционного процесса – от подбора материала до контроля за составом популяции в ходе селекции и в процессе семеноводства. В ВИР метод электрофореза проламинов успешно используется для решения проблем идентификации и регистрации генетических ресурсов плевела многолетнего, ежи сборной и овсяницы луговой, анализа полиморфизма сортовых и природных популяций, для контроля за генетической целостностью образцов коллекции и других целей. Составлены каталоги и компьютерные базы данных сортов и дикорастущих образцов ежи, овсяницы, плевела. На примере трех сортов ежи сборной селекции Хоккайдской Национальной сельскохозяйственной экспериментальной станции (Саппоро, Япония) подтверждена эффективность стандартных методов электрофореза белков для контроля за процессом семеноводства злаковых трав. В частности, необходимо было выяснить наличие достоверных изменений в генотипическом составе образцов семян сортов ежи сборной, регулярно репродуцируемых в разных условиях и в разные годы. Сравнивали репродукции семян, полученные в Японии (два пункта) и в США (штат Орегон). С высокой степенью достоверности доказано, что существенные изменения в генотипическом

составе популяций происходили в ходе репродукции семян только в условиях штата Орегон (США). Практическим результатом исследования явилось изменение в схеме семеноводства этих сортов ежи. «*Use of storage protein polymorphism in Studying of Initial material in Breeding and in Seed Production of Forage Cereal Grasses*» (Konarev A. V., Perchuk I. N., Nakayama S., Proc. Of Int. Workshop, Moscow, 1999). «*Использование полиморфизма проламинов в изучении исходного материала и семеноводстве кормовых злаковых трав*» (Конарев А. В., Перчук И. Н., Накаяма С., Аграрная Россия, №3, 2002).

Новым направлением работы отдела с 2000 года стало изучение эндофитных грибов овсяницы луговой (*Festuca pratensis* Huds.). За рубежом для создания исходного материала и новых сортов ряда злаковых трав уже два десятилетия используется естественная симбиотическая ассоциация этих растений с грибами-эндофитами рода *Neotyphodium* (= *Acremonium*). В нашей стране систематические исследования симбиотических отношений многолетних кормовых злаковых трав и их грибных симбионтов не проводились. Начало было положено исследованиями в рамках совместного научного проекта ВИР – Хоккайдская с.-х. экспериментальная станция (Саппоро, Япония). Образцы овсяницы луговой из коллекции отдела генетических ресурсов кормовых растений ВИР были изучены на наличие грибов-эндофитов. Проведена идентификация гриба-эндофита, обнаруженного в образцах семян. Дана характеристика эндофитсодержащих (E+) образцов овсяницы по биохимическим показателям (содержанию и составу алкалоидов), связанным с жизнедеятельностью грибов-эндофитов рода *Neotyphodium*. На примере овсяницы луговой, было изучено влияние грибов-симбионтов на адаптивные способности растений-хозяев (морозостойкость). Изучен полиморфизм запасных белков – проламинов у E+ и E- образцов. Высказано предположение о наличии определенной избирательности эндофитной инфекции по отношению к различным генотипам овсяницы луговой, идентифицируемым по спектрам проламина. Обсуждается влияние присутствия грибов-эндофитов на характер и уровень генетического полиморфизма образцов овсяницы, выявляемых по спектрам проламина. Результаты проведенных исследований свидетельствуют в пользу актуальности и целесообразности изучения имеющегося в России генофонда многолетних кормовых злаковых трав в связи с их симбиотическими отношениями с грибами-эндофитами и перспективами более широкого использования этого феномена в

отечественной селекции. «Характеристика образцов овсяницы луговой из коллекции ВНИИ Растениеводства им. Н. И. Вавилова, содержащих симбиотические грибы-эндофиты рода *Neotyphodium*» (Шеленга Т. В., Конарев А. В., Дзюбенко Н. И., Малышев Л. Л., Такаи Т., Аграрная Россия, №2, 2005). «Изучение образцов овсяницы луговой из коллекции ВНИИ растениеводства имени Н. И. Вавилова, содержащих симбиотические грибы-эндофиты рода *Neotyphodium*». (Т. В. Шеленга, А. В. Конарев, Н. И. Дзюбенко, Л. Л. Малышев и Т. Такаи, Доклады Россельхозакадемии, №1, 2006). «*Analysis of endophytes and alkaloid content in the seeds of meadow fescue from VIR collection*» (Shelenga T. V., Konarev A. V., Dsyubenko N. I. International congress of Molecular plant-microbe interaction. St. Pb., 2003).

Выявленный в ходе изучения мирового генофонда высокий уровень внутривидовой изменчивости полипептидного состава запасных глобулинов семян свеклы, репы, брюквы, моркови, огурца, кабачка и др. позволил использовать спектры запасных глобулинов семян в сортовой идентификации этих культур. С использованием электрофореза белков в ВИР анализируются сортовая принадлежность и чистота партий семян овощных культур: капусты, огурца, моркови, редиса, перца сладкого, кабачка, а также свеклы, баклажана, тыквы, дыни, лука и др. Образцы на анализ поступают от предприятий и фирм из разных регионов РФ. В испытательной лаборатории ВИР с 2000 г. по спектрам белков оценены сортовая принадлежность и чистота более 200 партий семян овощных культур. «*Электрофорез белков семян в сортовой идентификации овощных культур*» (Гаврилюк И. П., Губарева Н. К., Смирнова Е. В., Пыженков В. И., Аграрная Россия № 2, 2005).

В результате изучения мировой коллекции получены новые сведения о молекулярной гетерогенности и полиморфизме запасных белков салата рода *Lactuca* L. Изучено наследование электрофоретических вариантов запасных белков семян при внутривидовых и межвидовых скрещиваниях у салата. С использованием полиморфных белковых признаков оценена частота переопыления в группе образцов салата, репродуцированных на изолированных участках в условиях Майкопской ОС ВИР. Полученные результаты показали, что электрофорез глобулинов – эффективный инструмент для контроля за сохранением аутентичности образцов салата и нежелательным переносом генов из дикорастущих популяций в культурные и в обратном направлении. «*Характеристика образцов салата (*Lactuca* L.) по составу электрофоретических спектров*

*запасных белков семян»* (Якупова И. А., Анисимова И.Н., Шашилова Л.И. Аграрная Россия, №2, 2005).

Прикладным аспектом деятельности отдела по изучению природы и молекулярной организации признаков качества является оценка реакций проламинов различных видов и сортов злаков с антителами крови больных целиакией. Целиакия или глютенная энтеропатия – хроническое заболевание человека, при котором употребление в пищу продуктов, содержащих муку пшеницы, ржи, ячменя и, возможно, овса вызывает в организме целый спектр патологических изменений. Цель работы: поиск в мировом генофонде источников сырья для производства продуктов для безглютеновой диеты. Генофонд злаков анализируется методами молекулярной биологии и биохимии с целью выявления форм не токсичных при целиакии и перспективных для производства соответствующих продуктов питания. Работа проводится в тесном сотрудничестве с медицинскими учреждениями и фирмой «Протеин», разрабатывающей технологии производства безглютеновых продуктов. Результаты опубликованы и доложены на отечественных и зарубежных съездах и конференциях. *«Проламины и целиакия»* (Алпатьева Н. В., Гаврилюк И. П., Леонтьева Н. А., Орешко Л. С., Красильников В. Н., Барсукова Н. А., Лоскутов И. Г., Аграрная Россия № 6, 2004). Gavrilyuk I., Alpatyeva N., Leontieva N., Krasilnikov V., Loskutov I. 7-th Int. Oat conference Finland, Helsinki, 2004.

В рамках международного проекта «Идентификация ценных признаков для использования в селекции овса на содержание и качество масла» проведены совместные исследования с с.-х. Университетом Альнарп (Швеция). Генофонд дикорастущего и культурного овса из коллекции ВИР охарактеризован на содержание масла, его фракционный и жирнокислотный состав. Выделены ценные для селекции на качество масла формы. *«Характеристика дикорастущих видов овса из коллекции ВИР по содержанию, фракционному и жирнокислотному составу масла»* (Шеленга Т. В., Леонова С. В., Конарев А. В., Лоскутов И. Г., Карлосон А., Стим С., «Аграрная Россия», №6, 2006).

Совместный проект (ВИР – Аграрный Университет и Университет Гетеборга – Швеция, 2005-2008 гг.) «Омега 3» осуществляется с целью создания форм (линий) овса с высоким содержанием бѣтга-глюканов и улучшенными жирно-кислотным составом (С. В. Леонова, И. Г. Лоскутов, А. В. Конарев, Карлосон А.).

Сотрудники отдела докладывали результаты своих исследований на престижных международных и отечественных съездах, конгрессах, конференциях и симпозиумах, публиковали материалы в сборниках этих форумов, выступали с лекциями в университетах и научных центрах. Ниже приведены наиболее значимые из них.

Доклады и лекции, прочитанные за рубежом:

Конарев А. В. Аграрный факультет университета Галле (Германия), 1997.

Комиссарова Ю. В. 5-я Международная конференция по пищевым белкам. Потсдам, Германия, 1997.

Anisimova I. N., Konarev Al. V. et al.; Konarev Al. V., Anisimova I. N., et al. (2 докл.) XV EUCARPIA General Congress. "Genetical and Breeding for crop Quality and Resistance", Viterbo. Italy. 1998.

Anisimova I. N., Konarev Al. V. et al. (2 докл.). IV European Sunflower Biotechnology Conference Montpellier. France, 1998.

Konarev A. V. Hokkaido National Agricultural Experiment Station, Sapporo, Japan. 1998.

Strelchenko P. P. Hokkaido National Agricultural Experiment Station, Sapporo, Japan, 1998.

Konarev A. V. Seed and Plant Improvement Institute, Iran, 1999.

Strelchenko P. Kovalyova O., Okuno K. 4-th Gatersleben Research Conference, 1999, ИПК, Gatersleben, Germany.

Konarev A. V. 4-th Intern. Symp. "TRITICEAE", Spain, Cordoba, 2001.

Konarev A. V. XXVI-th International Horticultural Congress, Toronto, Canada, 2002.

Стрельченко П. П. Семинар станции ИНРА по селекции и генетике растений. Клермонт – Ферран, Франция, 2003.

Farber S. P., Artemyeva A. M. Working Group on *Brassica* IPGRI, 2003.

Anisimova I., Gavrilova V., Berville A. 9-th Int. Symp. On Plant Seeds. Gatersleben, Germany, 2004.

Anisimova I., Pendinen G., Gavrilova V. 9-th Int. Symp. on Plant Seeds. Gatersleben, Germany, 2004.

Gavrilyuk I., Alpatyeva N., Leontieva N., Krasilnikov V., Loskutov I. 7-th Int. Oat conference Finland, Helsinki, 2004.

Доклады на конференциях и лекции в России:



Конарев А. В. Конференция «Методы молекулярной биотехнологии и клеточной инженерии на растительных объектах», Москва РАСХН, ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии, 1998.

Конарев А. В.; Гаврилюк И. П.; Пенева Т. И., Кудрякова Н. В.; Стрельченко П. П. (4 доклада). IV Совещание по кариологии и кариосистематике растений. БИН им. В. Л. Комарова РАН, СПб., 1999.

Конарев А. В. Российско-Японский симпозиум: «Пути развития устойчивости кормопроизводства». ВНИИ кормов им. В. Р. Вильямса. Москва, 1999.

Конарев А. В. Межд. научно-практическая конференция «Семя», Москва, 1999.

Конарев А. В. Научно-методическая конференция: «Роль физиологии растений в адаптивной селекции агротехнологии», Орел, 1999.

Анисимова И. Н. 11-ая Межд. научная конференция «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии», Москва, 2000.

Жукова М. А.; Романова Ю. А.; Шеленга Т. В. (3 доклада) Межд. научно-практическая конференция «Проблемы мобилизации, инвентаризации, сохранения и изучения генофонда важнейших с.-х. культур для решения приоритетных задач селекции» ВИР, СПб., 2001.

Стрельченко П. П. Заседание секции кариологии, кариосистематики и молекулярной систематики растений Русского Ботанического общества, БИН им. В. Л. Комарова 2002.

Алпатьева Н. В., Лебедева Е. Г., Разоренова Т. С., Губарева Н. К., Конарев А. В. 1-ая национальная конференция «Информационно-вычислительные технологии в решении фундаментальных научных проблем и прикладных задач химии, биологии, фармацевтики, медицины». Москва, 2002.

Конарев А. В.; Стрельченко П. П. и Митрофанова О. П. (2 доклада) V Международное совещание по кариологии и кариосистематике, БИН им. В. Л. Комарова, СПб, 2005.

Якупова И. А., Анисимова И. Н., Шашилова Л. И. Международная конференция «Молекулярно-генетическое разнообразие растений», г. Вологда, 2005.

Конарев А.В. Школа молодых генетиков и селекционеров, Уфа, 2006.

Конарев А.В. Башкирский государственный аграрный университет, Уфа, 2006.

#### IV. ПРИЛОЖЕНИЯ

1. Каталоги и методические указания, изданные в 1997 – 2006 гг.

№ п/п	Название изданий	Составители
----------	------------------	-------------

#### Общие вопросы

- |  |                                 |
|--|---------------------------------|
| 1. Система изучения коллекции зерновых бобовых культур, методы селекции. Методические указания. СПб.: ВИР, 1997. | Репьев С. И.<br>Никишкина М. А. |
|--|---------------------------------|

#### Пшеница

- |  |   |
|--|---|
| 2. Пшеница. Комплексная оценка перспективных по качеству зерна образцов яровой мягкой пшеницы в условиях Центрально-Черноземного района России. Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 698. СПб., 1999. | Хакимова А. Г.<br>Зуев Е. В.<br>Брыкова А. Н. и др. |
|--|---|

- |  |   |
|--|---|
| 3. Пшеница. Скороспелые сорта. Каталог мировой коллекции ВИР. СПб, 1999. | Зуев Е. В.<br>Мережко А. Ф.<br>Хакимова А. Г. и др. |
|--|---|

#### Эгилопсы

- |   |                                  |
|---|----------------------------------|
| 4. Анализ и идентификация видов <i>Aegilops</i> L., <i>Triticum</i> L. И их синтетических амфидиплоидов по белкам-антигенам зерновки. Методические указания и каталог образцов ВИР. СПб., 2000. | Хакимова А. Г.<br>Гаврилюк И. П. |
|---|----------------------------------|

#### Овес

- |  |   |
|--|---|
| 5. Овес (характеристика образцов дико-растущих видов овса по содержанию и аминокислотному составу белка, по содержанию и жирнокислотному составу масла в условиях Ленинградской обл. Белковые формулы по электрофоретическим спектрам авенина). Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 704. СПб., 1999. | Лоскутов И. Г.<br>Чмелева З. В.<br>Губарева Н. К.<br>Хорева В. И.<br>Низова Г. К. |
|--|---|

#### Рожь

- |                               |                   |
|-------------------------------|-------------------|
| 6. Рожь (Диплоидные формы, их | Кобылянский В. Д. |
|-------------------------------|-------------------|

- характеристика по хозяйственно ценным признакам). Каталог мировой коллекции ВИР, СПб., 1997.
7. Рожь. Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 699, СПб., 1999.
  8. Озимая рожь (Селекционная ценность доноров и новых образцов). Каталог мировой коллекции ВИР. СПб., 2004.
- Кукуруза и просо
9. «Анализ и регистрация линий, сортов и гибридов кукурузы по зеину методом электрофореза» – Методические указания и каталог белковых формул. СПб.: ВИР, 1998, 50 с.
  10. Просо. (Доноры и источники при селекции на качество зерна). Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 776., СПб., 2006, 62с
- Бобовые
11. Горох (Оценка на содержание белка и антипитательных компонентов). Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 727, СПб., 2000.
  12. Фасоль. Оценка образцов на активность ингибиторов трипсина, содержание белка в семенах и другие хозяйственно ценные признаки. Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 745, СПб., 2004.
  13. Соя. Кормовые образцы (исходный материал для селекции на урожайность. Химический состав зеленой массы и семян в условиях Северного Кавказа). Каталог мировой коллекции ВИР. Вып.717, С-Пб. 2000.
  14. Чечевица (Устойчивость образцов к ботритиозу и другие хозяйственно
- Белугина Н. О.  
Чмелева З.В.
- Кобылянский В. Д.  
Белугина Н. О.  
Чмелева З. В. и др.  
Кобылянский В.Д.,  
Солодухина О.В.,  
Хорева В.И. и др.
- Сидорова В. В.  
Матвеева Г. В.  
Тимофеева Г. И.  
Ред. Конарев В. Г.
- Курцева А.Ф.,  
Фитенко М.А.,  
Хорева В.И.
- Сердюк В. П.  
Заморская Ю.М.  
Бенкен И.И.  
Никишкина М. А.  
Буровцева Т.В  
Никишкина М.А.
- Бурляева М.О.  
Силаева О.И.  
Никишкина М.А.
- Яньков И.И.,  
Панкратов Н.Н.,

- ценные признаки). Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 769, СПб., 2005г.
- Капуста
15. Капустные растения рода *Brassica* L. Характеристика образцов по основным биохимическим показателям качества. Каталог мировой коллекции ВИР, вып. 756, СПб., 2004.
- Морковь
16. Морковь (характеристика образцов по биохимическим показателям и устойчивости к вредителям). Каталог мировой коллекции ВИР, вып. 747, СПб., 2004.
- Другие культуры
17. Крестоцветные культуры: рапс, сурепица, сарептская горчица, рыжик (характеристика образцов по содержанию масла, жирных кислот, белка. Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 700. СПб., 1999.
18. Доноры хозяйственно ценных признаков для селекции льна-долгунца. Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 714, СПб., 2000.
19. Лен (Характеристика образцов по биохимическим показателям). Каталог мировой коллекции ВИР, вып. 775, СПб., 2006, 80с
20. Редкие виды пшениц. Генетическое разнообразие коллекции пшеницы спельты (*Triticum spelta* L). Каталог мировой коллекции ВИР, вып. 752. СПб, ВИР, 2004, 78с
- Никишкина М.А.,  
Андреева Н.Н.
- Соловьева А.Е.  
Артемьева А.М.
- Соловьева А.Е.  
Ермолаева Л.В.  
Хмелинская Т.В.
- Низова Г. К.  
Дубовская А. Г.  
Конькова Н. Г.  
Ред. Конарев А. В.
- Кутузова С. Н.  
Брач Н. Б.  
Низова Г. К. и др.
- Низова Г.К.
- Митрофанова О.П.,  
Романова Ю.А,  
Ляпунова О.А.,  
Губарева Н.К.,  
Конарев А.В. и др.

2. Приложение к аттестату аккредитации испытательной  
лаборатории ВИР им. Н. И. Вавилова № 001808 от 27.05.02

ОБЛАСТЬ АККРЕДИТАЦИИ

«Испытательной лаборатории по оценке сортовой принадлежности сортовой чистоты  
методом электрофореза» при ГНЦ ВИР им.Н.И.Вавилова

Наименование продукции	Код ОКП	Наименование показателей качества семян подтверждаемых сертификацией	Обозначение нормативной документации на продукцию, на методы испытаний для определения характеристик, подтверждаемые при сертификации
1. Семена зерновых, зернобобовых и кормовых культур (пшеница, ячмень, овес, рожь, кукуруза, овсяница, ежа, плевел, тритикале, фасоль, чечевица, вика, горох, бобы)	0111000	Сортовая принадлежность и сортовая чистота семян	ГОСТ 10246, ГОСТ 10248, ГОСТ 10252, ГОСТ 10253, ГОСТ 10467, ГОСТ 10468, ГОСТ 10469, ГОСТ 10470, ГОСТ 11226, ГОСТ 11227, ГОСТ 11230, ГОСТ 19449, ГОСТ 19450, ГОСТ 19451, ГОСТ 19454, ОСТ 10-006 , ТУ 46-27-681 и др.
2. Семена масличных культур (подсолнечник)	0114000	-"	ГОСТ 9576, ГОСТ 9668, ГОСТ 9669 ГОСТ 9670, ГОСТ 9671, ГОСТ 9823, ГОСТ 9824, ОСТ 10-13, ОСТ 10-14, ОСТ 10-009
3. Семена овощных культур (капуста, морковь,	0112000	-"	ГОСТ 28676.1, ГОСТ 28676.2, ГОСТ 28676.3, ГОСТ 28676.4,

редис, перец, огурец, кабачок)			ГОСТ 28676.5, ГОСТ 28676.6, ГОСТ 28676.12, ГОСТ 28676.13, ГОСТ 28676.14, ТУ 10 РФ 508 и др.
4. Семена сахарной свеклы	014531	-"-	ГОСТ 2890, ГОСТ Р 50283, ГОСТ 10882 ГОСТ 20797 Временные методические указания по сортовой идентификации семян пшеницы и ячменя с использованием электрофореза запасных белков зерна. Утверждены начальником ГСИ Минсельхозпрода РФ 18.10.1999 г. Временные методические указания по сортовой идентификации семян двудольных с/х культур с использованием электрофореза запасных белков семян. Утверждены начальником ГСИ Министерства с.-х. РФ. 1.08.2001 г. Временные методические указания по сортовой идентификации семян кукурузы, ржи и овса с использованием электрофореза запасных белков семян. Утверждены начальником ГСИ Министерства с.-х. РФ 23. 05. 2002 г.

## О Г Л А В Л Е Н И Е

I	МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕНО- ФОНДА КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ (В СВЯЗИ С ТРИДЦАТИЛЕТИЕМ ОТДЕЛА МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ ВИР)	3
II	ПРИЛОЖЕНИЯ	
1.	Белковые маркеры в анализе исходного и селекционного материала, сортовой идентификации и регистрации генетических ресурсов культурных растений и их диких сородичей (В.Г.Конарев – доклад на расширенном Бюро Президиума ВАСХНИЛ, посвященном этой проблеме, от 17 февраля 1977 г.)	45
2.	Из постановления Бюро Президиума ВАСХНИЛ (17 февраля 1977г.)	56
3.	Предложения от Комиссии Президиума ВАСХНИЛ	57
4.	Современные методы биохимии в анализе популяций	64
5.	Разработка принципов и методов белковых маркеров и их внедрение в растениеводство (В.Г.Конарев, И.П.Гаври- люк, Н.К.Губарева – сообщение для общественного обсуждения на Ученом Совете Института биохимии им. А.Н. Баха АН СССР, 20 мая 1986 г.)	68
6.	Рекомендации по использованию белковых маркеров в сортоиспытании, семеноводстве и семенном контроле. Составители: И.П.Гаврилюк, М.А.Федин, Н.К.Губарева, П.П.Демкин, Т.А.Микшун, Т.И. Пенева, А.В.Конарев, В.В.Сидорова, Э.Э.Егги, И.Н. Анисимова, А.М.Тарла- ковская. Под редакцией В.Г.Конарева. Рекомендации утверждены научно-техническим советом Госагропрома СССР 15 декабря 1988 г. (М.-Л., ВИР, Госкомиссия по сортоиспытанию с.-х. культур при Госагропроме СССР, 1989)	73
7.	Кандидатские диссертации, подготовленные в отделе молекулярной биологии и защищенные	89

8.	Каталоги сортовых белковых формул, методические указания и рекомендации по использованию белковых маркеров в селекции, семеноводстве и семенном контроле (под редакцией В.Г.Конарева)	95
9.	Каталоги “Мировой коллекции ВИР” зерновых, бобовых, масличных и кормовых культур с характеристикой образцов по содержанию и качеству белка	100
10.	Список научных учреждений и лабораторий, с которыми отдел молекулярной биологии вел комплексные исследования	107
III.	МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕНО-ФОНДА КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ В 1997-2007 гг. (В СВЯЗИ С СОРОКАЛЕТИЕМ ОТДЕЛА МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ ВИР)	111
IV.	ПРИЛОЖЕНИЯ	
1.	Каталоги и методические указания, изданные в 1997 – 2006 гг.	130
2.	Приложение к аттестату аккредитации испытательной лаборатории ВИР им. Н.И.Вавилова № 001808 от 27.05.02	133

Конарев Василий Григорьевич

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ  
ГЕНОФОНДА КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ В ВИРЕ  
(1967–2007гг.)

Издание 2-е дополненное

Компьютерная верстка В. В. Сидоровой

---

Подписано в печать 21.03.07г. Формат 60x84 <sup>1</sup>/16. Бумага офсетная.

Печать трафаретная ризографическая. Печ. л. 8,5. Тираж 100.

190000, Санкт-Петербург, Большая Морская ул., 44

---

ООО «Копи-Р»