

Научный рецензируемый журнал  
*Лисьма*



# ВАВИЛОВСКИЙ ЖУРНАЛ ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ

Основан в 2015 году  
Периодичность один раз в квартал

DOI 10.18699/LettersVJ2021-7-19

## Учредитель

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН)

## Главный редактор

*А.В. Кочетов* – чл.-кор. РАН, д-р биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

## Заместители главного редактора

*Н.П. Гончаров* – академик РАН, д-р биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

*Е.А. Салина* – д-р биол. наук, профессор (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

## Ответственный секретарь

*О.Ю. Шоева* – канд. биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

## Редакционная коллегия

*О.С. Афанасенко* – академик РАН, д-р биол. наук, профессор (Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия)

*М.А. Вишнякова* – д-р биол. наук, профессор (Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Россия)

*Т.А. Гавриленко* – д-р биол. наук, профессор (Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Россия)

*Ю.Э. Гербек* – канд. биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

*Е.И. Гултыяева* – д-р биол. наук (Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия)

*Н.И. Дубовец* – чл.-кор. НАН Беларуси, д-р биол. наук, доцент (Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь)

*И.К. Захаров* – д-р биол. наук, профессор (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

*К.В. Крутовский* – канд. биол. наук, профессор (Гёттингенский университет им. Георга-Августа, Гёттинген, Германия)

*А.М. Кудрявцев* – д-р биол. наук (Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия)

*С.А. Лашин* – канд. биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

*А.Ю. Летягин* – д-р мед. наук, профессор (НИИКЭЛ – филиал СО РАН, Новосибирск, Россия)

*П.Н. Мальчиков* – д-р с.-х. наук (Самарский НИИ сельского хозяйства им. Н.М. Тулайкова, пос. Безенчук, Россия)

*Е.А. Орлова* – канд. с.-х. наук (СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

*А.С. Пилипенко* – канд. биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

*Ю.И. Рагино* – чл.-кор. РАН, д-р мед. наук, профессор (НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

*И.Д. Рашаль* – академик Латвийской АН, д-р биол. наук, профессор (Институт биологии Латвийского университета, Саласпилс, Латвия)

*Р.Р. Садоян* – д-р биол. наук, доцент (Армянский государственный педагогический университет им. Хачатура Абовяна, Ереван, Армения)

*А.А. Соловьев* – д-р биол. наук, профессор (Всероссийский НИИ сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия)

*Н.А. Сурин* – академик РАН, д-р с.-х. наук, профессор (Федеральный исследовательский центр КНЦ СО РАН – обособленное подразделение Красноярский НИИ сельского хозяйства, Россия)

*В.А. Трифонов* – д-р биол. наук, профессор (Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия)

*В.С. Фишман* – канд. биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

*С.В. Шеховцов* – канд. биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

Scientific Peer Reviewed Journal

# Letters

to **VAVILOV JOURNAL  
OF GENETICS AND BREEDING**

Founded in 2015

Published once a quarter

DOI 10.18699/LettersVJ2021-7-19

## Founder

Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch  
of the Russian Academy of Sciences (ICG SB RAS)

## Editor-in-Chief

*A.V. Kochetov* – Dr. Sci. in Biol., Corr. Member of the RAS (Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia)

## Deputy Editors-in-Chief

*N.P. Goncharov* – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the RAS (Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia)

*E.A. Salina* – Dr. Sci. in Biol., Professor (Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia)

## Executive Secretary

*O.Yu. Shoeva* – Cand. Sci. in Biol. (Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia)

## Editorial board

*O.S. Afanassenko* – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the RAS Professor (All-Russia Research Institute for Plant Protection, St. Petersburg, Russia)

*M.A. Vishnyakova* – Dr. Sci. in Biol., Professor (N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia)

*T.A. Gavrilenko* – Dr. Sci. in Biol., Professor (N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia)

*Yu.E. Herbeck* – Cand. Sci. in Biol. (Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia)

*E.I. Gulyaeva* – Dr. Sci. in Biol. (All-Russia Research Institute for Plant Protection, St. Petersburg, Russia)

*N.I. Dubovets* – Dr. Sci. in Biol., Corr. Member of the NASB, Docent (Institute of Genetics and Cytology of National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus)

*I.K. Zakharov* – Dr. Sci. in Biol., Professor (Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia)

*K.V. Krutovsky* – Cand. Sci. in Biol., Professor (Georg-August University of Göttingen, Göttingen, Germany)

*A.M. Kudryavtsev* – Dr. Sci. in Biol. (Vavilov Institute of General Genetics, RAS, Moscow, Russia)

*S.A. Lashin* – Cand. Sci. in Math. Biol. Bioinf. (Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia)

*A.Y. Letyagin* – Dr. Sci. in Med., Professor (Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia)

*P.N. Malchikov* – Dr. Sci. in Agricul. (Tulaikov Research Institute of Agriculture, Russian Agricultural Academy, Bezenchuk, Russia)

*E.A. Orlova* – Cand. Sci. in Agricul. (Siberian Research Institute of Plant Production and Breeding – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia)

*A.S. Pilipenko* – Cand. Sci. in Biol. (Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia)

*Yu.I. Ragino* – Dr. Sci. in Med., Corr. Member of the RAS, Professor (Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia)

*I. Rashal* – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the LAS, Professor (Institute of Biology, University of Latvia, Salaspils, Latvia)

*R.R. Sadoyan* – Dr. Sci. in Biol., Docent (Armenian State Pedagogical University after Kh. Abovyan, Yerevan, Armenia)

*A.A. Soloviev* – Dr. Sci. in Biol., Professor (All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow, Russia)

*N.A. Surin* – Dr. Sci. in Agricul., Corr. Member of the RAS, Professor (Krasnoyarsk Research Institute of Agriculture – Division of Federal Research Center "Krasnoyarsk Scientific Center, SB RAS", Krasnoyarsk, Russia)

*V.A. Trifonov* – Dr. Sci. in Biol., Professor (Institute of Molecular and Cellular Biology of the Siberian Branch of the RAS, Novosibirsk, Russia)

*V.S. Fishman* – Cand. Sci. in Biol. (Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia)

*S.V. Shekhovtsov* – Cand. Sci. in Biol. (Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia)

## СОДЕРЖАНИЕ • 2021 • 7 • 3

### Филогенетика

- 119 Маркерные последовательности ДНК  
для идентификации известных  
и выявления новых видов  
растений и животных  
*О.В. Ваулин, И.К. Захаров*

### Физиологическая генетика

- 124 Регуляция транспорта натрия  
в клетках собирательных трубок  
почки мышей с мутацией *Agouti yellow* ( $A^Y$ )  
*Н.С. Логвиненко, Л.Е. Каткова, Е.И. Соленов, Г.С. Батурина*

### Генетика растений

- 130 Влияние опушения листьев  
и направления скрещиваний  
на устойчивость яровой мягкой  
пшеницы к мучнистой росе  
и бурой ржавчине  
*А.А. Коновалов, Е.А. Орлова, Б.Ф. Немцев, Е.Я. Кондратенко*

### История науки. О выдающихся работах ИЦиГ СО РАН

- 138 Как в Институте цитологии и генетики  
СО АН СССР синтезировали  
ген  $\beta$ -интерферона *IFNB1* человека  
*С.И. Ошевский*

### Селекция растений

- 148 Владимир Александрович Тюнин  
и селекция пшеницы на Южном Урале:  
памяти селекционера  
*И.Ю. Кушниренко, В.П. Шаманин, Е.Р. Шрейдер, Н.П. Гончаров,  
Е.А. Салина, В.И. Цыганков, Е.В. Зувев, А.И. Моргунов*

## CONTENTS • 2021 • 7 • 3

- Phylogenetics**
- 119 Marker sequences of DNA usage for identification of known species of plants and animals and search of new taxa  
*O.V. Vaulin, I.K. Zakharov*
- Physiological genetics**
- 124 Sodium transport regulation in the kidney collecting duct cells in mice with the *Agouti yellow* ( $A^y$ ) mutation  
*N.S. Logvinenko, L.E. Katkova, E.I. Solenov, G.S. Baturina*
- Plant genetics**
- 130 Effect of leaf pubescence and direction of crossbreeding on spring bread wheat resistance to powdery mildew and brown rust  
*A.A. Konovalov, E.A. Orlova, B.F. Nemtsev, E.Ya. Kondratenko*
- History of science. About outstanding works of ICG SB RAS**
- 138 How the human *IFNB1* gene was synthesized at the IC&G SB AS USSR  
*S.I. Oshevski*
- Plant breeding**
- 148 Vladimir A. Tyunin and wheat breeding in the Southern Urals: In memory of plant breeder  
*I.Yu. Kushnirenko, V.P. Shamanin, E.R. Schreider, N.P. Goncharov, E.A. Salina, V.I. Tsygankov, E.V. Zuev, A.I. Morgounov*

 pismavavilov.ru

DOI 10.18699/LettersVJ2021-7-14

Обзор

## Маркерные последовательности ДНК для идентификации известных и выявления новых видов растений и животных

О.В. Ваулин✉, И.К. Захаров

**Аннотация:** В обзоре рассмотрены наиболее часто используемые для идентификации видов растений и животных ДНК-маркеры. Показаны особенности их применимости, преимущества и недостатки при изучении близких видов и для выявления межвидовых гибридов. При наибольшей популярности методов, основанных на анализе митохондриальных и хлоропластных маркеров, тем не менее существенный акцент сделан на участки генов рРНК, так как для них внутри- и межвидовая изменчивость различается более контрастно.

**Ключевые слова:** идентификация видов; *COI*; гены хлоропластов; межгенные спейсеры; гены рРНК.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке бюджетного проекта ИЦиГ СО РАН № 0259-2021-0011.

**Для цитирования:** Ваулин О.В., Захаров И.К. Маркерные последовательности ДНК для идентификации известных и выявления новых видов растений и животных. *Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;7(3):119-123. DOI 10.18699/LettersVJ2021-7-14

Review

## Marker sequences of DNA usage for identification of known species of plants and animals and search of new taxa

O.V. Vaulin✉, I.K. Zakharov

**Abstract:** This review is devoted to most often used DNA markers for plant and animal species identification. We considered features of their suitability, advantages and disadvantages in differentiation on close species and interspecific hybrids. Now, the most popular are methods that are based on mitochondrial and chloroplast markers, however, we made an accent to fragments of rRNA genes, because intra- and between- species diversity are more contrast for them.


**Key words:** species identification; *COI*; chloroplast genes; intergenic spacers; rRNA genes.


**For citation:** Vaulin O.V., Zakharov I.K. Marker sequences of DNA usage for identification of known species of plants and animals and search of new taxa. *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;7(3):119-123. DOI 10.18699/LettersVJ2021-7-14 (in Russian)

Надежная идентификация близких видов организмов – важная прикладная задача. Такая задача актуальна, например, при оценке эпидемиологической опасности, если переносчиком заболевания является одна часть видов из группы видов-двойников, а другая часть видов этой группы в качестве переносчиков малоэффективна. Аналогичные задачи могут ставиться и при необходимости разделять сходные виды растений, различающиеся по хозяйственно ценным признакам, например содержанию биологически активных веществ. Такие задачи могут ставиться при отдаленной ги-

бридизации – одном из основных подходов для селекции растений (Колчанов и др., 2017). Можно отметить, что виды могут быть легко различимы на каких-то определенных стадиях развития, но неразличимы на других. Например, часть палеарктических видов малярийных комаров группы *Anopheles maculipennis* легко различима по окраске яиц. В то же время на стадиях личинок и имаго различия между образцами разных видов этой группы носят количественный характер (Сибатаев, Шабанова, 2007). Точно так же для растений: легко выявляемые видодиагностические признаки

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия  
Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

 oleg.v.vaulin@mail.ru

 © Ваулин О.В., Захаров И.К., 2021

присутствуют не на всех стадиях жизненного цикла. Более того, болотные растения, в зависимости от того, растут ли они полностью под водой или же находятся в основном в воздушной среде, могут значительно менять внешний вид. Такие морфологические и анатомические вариации прослежены на примере представителей многих групп, например представителей родов *Echinodorus*, *Ludwigia* и *Helosciadium* (Costa, Forni-Martins, 2004; Billet et al., 2018; Herden, Friesen, 2019).

В связи с этим, в целях определения видовой принадлежности, актуально применение молекулярно-генетических методов. Их важная особенность состоит в независимости результатов от стадии развития организма и его физической целостности. Они также позволяют обнаружить новые виды в тех случаях, когда методы морфологического анализа мало применимы. Отметим, что для хорошо различимых видов морфологические методы намного проще и дешевле, по сравнению с многоступенчатыми молекулярно-генетическими. Данная работа представляет собой краткий обзор особенностей применимости анализа последовательности различных участков ДНК для разделения видов как растений, так и животных.

Одним из очевидных критериев подбора видодиагностических маркеров является возможность получения качественных результатов секвенирования изучаемой нуклеотидной последовательности ДНК. В этом отношении удобны участки геномов цитоплазматических органелл (митохондрий и хлоропластов), а также тандемные повторы ядерных генов рРНК. Эти участки ДНК, в связи с высоким количеством копий на клетку, легко нарабатываются с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) и секвенируются. Несмотря на большую копийность, «генетическое разнообразие» внутри одного организма, как правило, не затрудняет получение качественных результатов секвенирования. Для ДНК хлоропластов и митохондрий действует механизм, приводящий к потере гетероплазмии в клетках и сходный с дрейфом генов в популяциях (Birky, 2001). Для генов рРНК высокое сходство между копиями как внутри одного организма, так и внутри вида, по-видимому, связано с процессами кроссинговера (Nei, Rooney, 2005). В ряде случаев в качестве маркерных участков для идентификации видов используют другие участки ДНК; например, для разделения видов комаров *Culex pipiens* и *C. quinquefasciatus* диагностическим считается участок гена *ace-2* (Bourguet et al., 1998).

Своеобразный «бум видодиагностики» у животных начался с анализа изменчивости митохондриального гена *COI* (субъединицы I цитохромоксидазы). Показано, что в большинстве случаев внутривидовая изменчивость ДНК по этому гену не превышает 1%, а межвидовая, как правило, более 2% (Hebert et al., 2003). Этот двухпроцентный уровень изменчивости обычно и используют как критерий видовой принадлежности. С помощью анализа последовательности *COI* находят новые криптические виды животных, например кровососущих насекомых (Hernández-Triana et al., 2012).

Высокая эффективность методов разделения видов по последовательности *COI* привела к идее использования аналогичных методов на растениях. Изменчивость митохон-

дриального гена *COI* у растений оказалась очень низкой, поэтому видодиагностика по ДНК-маркерам связана, в первую очередь, с хлоропластной ДНК. Проведенный масштабный анализ изменчивости и возможности получения качественных прочтений показал, что наиболее удачными участками являются фрагменты генов *rbcl* (большой субъединицы рибулозы 1.5 бисфосфат карбоксилазы/оксигеназы) и *matK* (матуразы K) (CBOL Plant Working Group, 2009). Более изменчивые межгенные спейсеры *psbK-psbI* (между генами низкомолекулярных пептидов K и I фотосистемы II) и *trnH-psbA* (между геном гистидиновой транспортной РНК и геном полипептида D1 фотосистемы II) давали менее надежные прочтения. В ряде случаев межгенные спейсеры обогащены блоками повторяющихся одинаковых нуклеотидов, что затрудняет качественное секвенирование методом Сэнгера.

Тем не менее тестирование возможности различных участков хлоропластной ДНК разделять виды растений дает противоречивые результаты. На примере группы растений семейства кутровые (Arosupaceae) было проведено сравнение эффективности для видодиагностики участков *rbcl*, *matK*, *trnH-psbA* и спейсера *trnL-trnF* (между транспортными РНК лейцина и фенилаланина). При этом продемонстрирована высокая возможность получения более качественных секвенсов для кодирующих участков ДНК, чем для межгенных спейсеров (Cabelin, Alejandro, 2016). Так, для *rbcl* и *matK* удалось получить качественные прочтения для 76.9% образцов, для спейсера *trnH-psbA* – для 69.2%, а для спейсера *trnL-trnF* – только для 53% образцов; полное разделение на конспекцифические ветви достигалось только по маркеру *matK*.

Другие авторы при тестировании участков *rbcl*, *matK* и *trnH-psbA* на пригодность для идентификации видов водных растений: представителей родов *Myriophyllum*, *Ludwigia*, *Cabomba* и семейства Hydrocharitaceae (Водокрасовые) – отметили низкую пригодность *matK* для разделения видов в связи с низкой способностью давать ПЦР-продукт для дальнейшего секвенирования, и участок *trnH-psbA* был признан наиболее эффективным для этих целей (Ghahramanzadeh et al., 2013).

Метод идентификации видов, или баркодинга по цитоплазматическим маркерам, основан на предположении, что в двух рассматриваемых группах организмов после возникновения репродуктивной изоляции под действием мутационного процесса и дрейфа генов сформировались разные наборы нуклеотидных замен. В то же время из-за гибридизаций или предкового полиморфизма такая картина изменчивости может нарушаться, приводя к невозможности разделения видов по цитоплазматическим маркерам. Яркий пример – группа видов комаров, составляющих афротропический комплекс *Anopheles gambiae*. Образцы, относящиеся к разным видам этой группы, случайным образом комбинируются на филогенетических деревьях по митохондриальной ДНК (Besansky et al., 1994). Данные полногеномного секвенирования видов этой группы указывают на обширные интрогрессии геномов (Fontaine et al., 2015). Таким образом, разделение видов по цитоплазматическим маркерам, несмотря на свою общую эффективность, во многих случаях не дает результатов.

Другая крайность состоит в разделении группы особей на отдельные, далеко разошедшиеся ветви (гаплотипы) митохондриальной ДНК, при отсутствии других причин считать носителей разных гаплотипов представителями разных видов (Шеховцов и др., 2020).

Ко второй группе маркеров, используемых для идентификации видов, относятся участки генов рРНК. Гены рРНК являются тандемными повторами и так же, как и гены хлоропластов и митохондрий, в большом количестве копий присутствуют в клетке. Благодаря тандемной организации и процессам неравного кроссигвера копии генов рРНК в высокой степени сходны между собой как внутри одного организма, так и в пределах группы свободно скрещивающихся между собой особей, то есть вида, при существенных межвидовых различиях (Sonnenberg et al., 2007). Поэтому гены рРНК могут быть более эффективны для разделения близких видов, чем цитоплазматические маркеры, по которым полиморфизмы могут перекрываться.

Чаще всего в работах с генами рРНК используют участок *ITS2* (транскрибируемый спейсер 2), реге *ITS1* (транскрибируемый спейсер 1), а также 28S (участок, соответствующий 28S рРНК). У покрытосеменных растений участок, включающий *ITS1* и *ITS2*, в высокой степени консервативен по длине и составляет 500–700 п.н. (Матвеева и др., 2011). В ряде работ показано, что участок *ITS2* более эффективен для видодиагностики растений, чем хлоропластные маркеры, в связи с большим разрывом между внутри- и межвидовыми дистанциями (Gao et al., 2010; Luo et al., 2010), и последовательность этого участка ДНК может быть предложена как основная для видодиагностики растений (Yao et al., 2010).

Для представителей семейства зонтичных (Ariaceae) был проведен сравнительный анализ различных участков ДНК (*rbcl*, *matK*, спейсера *trnH-psbA* и *ITS1-ITS2*) по способности различать виды (Liu et al., 2014). При этом наиболее общепринятая комбинация маркеров *rbcl-matK* смогла разделить только 40% видов, а *ITS1-ITS2* – 73.3%; комбинация *ITS1-ITS2* и *trnH-psbA* продемонстрировала эффективность в 80%.

Аналогичные результаты получены для представителей семейства кленовых (Aceraceae) (Han et al., 2016). В этой работе сопоставлена эффективность участков *matK*, *rbcl* и спейсера *trnS-trnG* (между хлоропластными генами тРНК серина и глицина), а также участка *ITS1-ITS2*. При изучении отдельных локусов наибольшую способность различать виды, то есть размещать на дендрограмме копспецифические образцы в отдельную ветвь, продемонстрировал именно *ITS1-ITS2* (в 50% случаев). Наибольшую эффективность имела комбинация ядерных и хлоропластных маркеров *ITS1-ITS2* плюс *trnS-trnG* (90.5%), использование же всех четырех маркеров разрешающую способность более не увеличивало.

У животных последовательности *ITS1* и *ITS2* значительно вариативнее по длине, чем у растений. Например, представленная в базе данных ДНК NCBI последовательность, *ITS2* у вида *Anopheles beklemishevi* (номер HE659701) имеет длину 744 п.н., а у относительно близкого вида *An. messeae* (номер HE659702) – 395 п.н. Известно, что рНК-транскрипт, соответствующий *ITS2*, образует определенную структуру из шпилек; на примере обширного набора групп близких видов высших растений, водорослей и животных было по-

казано, что структура из 30 пар нуклеотидов в основании шпильки Helix III строго коррелирует с репродуктивной изоляцией (Coleman, 2009), то есть замена пары нуклеотидов в этом участке шпильки всегда (на примере представителей 30 групп близких видов разных таксонов) соответствовала несовместимости гамет. Тем не менее A.W. Coleman (2009) считает, что какого-то особого механизма в данном случае нет и имеет место сходство темпов расхождения генов, непосредственно предопределяющих репродуктивную изоляцию и накопления замен в этом относительно консервативном элементе *ITS2*.

Последовательности *ITS2* широко использовали для выделения многочисленных видов малярийных комаров (Harbach, 2004). Например, при анализе *ITS2* пары видов *Anopheles funestus* и *An. rivulorum* было выделено три варианта последовательности этого участка ДНК для образцов *An. rivulorum*, эти варианты характеризовались определенными ареалами распространения и маркировали скрытые видовые формы (Hackett et al., 2000). Аналогичная работа по изучению связи вариации *ITS2* с морфологическими признаками у комаров группы *An. bancroftii* позволила выявить шесть вариантов этой последовательности, которые продемонстрировали отсутствие привязки к небольшим морфологическим вариациям, характеризовались определенными ареалами распространения и, по-видимому, соответствуют отдельным близким видам (Beebe et al., 2001).

У последовательностей генов рРНК в качестве маркеров видовой принадлежности есть важные недостатки. При наличии двух или более блоков тандемных повторов генов рРНК в геноме эволюционные процессы в них могут оказаться мало согласованными. Если такого рода вариации носят характер инсерций/делеций, то полноценное прочтение последовательности без дополнительных манипуляций (клонирования) становится невозможным. При высокой эффективности анализа участка *ITS1-ITS2* у растений встречающийся внутригеномный полиморфизм также может затруднять применимость этого участка ДНК для разделения видов растений (Матвеева и др., 2011).

В качестве альтернативы для животных предлагается анализ более консервативного участка генов рРНК – участка D1-D2, относящегося к фрагменту, кодирующему 28S рРНК (Sonnenberg et al., 2007). В то же время относительно высокая консервативность этого участка может не позволить различить виды, разошедшиеся по другим маркерам. Аналогичных работ применительно к растениям нам найти не удалось.

Удачная комбинация ядерных и цитоплазматических маркеров использовалась при масштабном анализе муравьев, происходящих из Пале- и Неарктики с целью ответа на вопрос о существовании «неподразделенных» видов, имеющих голарктический ареал (Schär et al., 2018). В этой работе основным типом ДНК-маркера был *COI*, но при наличии внутри одного вида нескольких четко выраженных филогенетических ветвей по этому маркеру изучали разнообразие по двум кодирующим генам и участку D2 28S. На основании расхождения по комплексу маркеров и строилось представление о коспецифичности/некоспецифичности образцов. Исследователи сделали вывод о действительном

существовании «цельных» видов с голарктическим ареалом, а также случаях антропогенной интрогрессии видов.

В связи с тем что анализ последовательностей методом секвенирования ограничивается его высокой стоимостью и трудоемкостью, альтернативой служит разделение видов по каким-либо единичным вариациям нуклеотидов – SNP (single nucleotide polymorphism – мононуклеотидные замены или небольшие встройки/делеции) в диагностических последовательностях. Для выявления SNP в диагностических последовательностях используется ряд основных методов, например, для разделения видов палеарктической группы малярийных комаров *Anopheles maculipennis* разработаны методы разделения по сайт-специфической ПЦР (Kampen, 2005), рестрикционному анализу (Ваулин, Новиков, 2010) и с помощью вариации Real-Time PCR (Lühken et al., 2016). Виды этой группы различаются по мононуклеотидным заменам и инсерциям/делециям в *ITS2* при обширных и, в одном случае, перекрывающихся полиморфизмах по *COI* (Ваулин, Новиков, 2016). Из-за этих различий виды могут быть разделены по спектрам рестрикции или же, при подборе праймеров под участки инсерций/делеций, – с помощью сайт-специфической ПЦР.

В качестве своеобразной модификации ПЦР для определения видовой принадлежности образцов используется Real-Time PCR – в этом случае сигнал считывается при посадке меченого зонда на ДНК-матрицу. Эффективность приведенного метода заключается в возможности количественно оценить видовой состав выборки при постановке единичной реакции со смесью ДНК от разных особей. Аналогичная вариация Real-Time PCR *ITS2* предложена для идентификации возбудителей кокцидоза кур (одноклеточные рода *Eimeria*), а также случаев заражения разными видами возбудителей болезни (Morgan et al., 2009).

При анализе цитоплазматических маркеров высокий уровень их полиморфизма или перекрывание разнообразия по этим маркерам между близкими видами могут привести к ошибкам при разделении образцов разных видов по SNP. Своеобразное исключение составляют птицы, для которых внутривидовая изменчивость по *COI* крайне мала и в среднем различия между особями одного вида равны 0.27%, то есть примерно две замены на диагностический участок в 658 п.н. (Hebert et al., 2004).

С разделением видов связано также выявление образцов, предположительно имеющих гибридное происхождение. Митохондриальная ДНК у животных наследуется по материнской линии и не может указывать на видовую принадлежность отца. Хлоропласты цветковых растений наследуются в большинстве случаев и от материнского растения. Однако примерно в 20% родов цветковых растений встречается наследование от обоих родителей (Zhang, 2010), а у голосеменных хлоропластная ДНК обычно наследуется от отцовского растения. Гены рРНК оказываются более удобными для выявления гибридов, чем цитоплазматические, так как гибридные особи могут получать гены рРНК от обоих родителей. В этом случае результаты секвенирования генов рРНК или сайт-специфические манипуляции (рестрикция или сайт-специфическая ПЦР) будут давать спектры наложения паттернов, характерных для разных видов.

Приведенный обзор в общих чертах сопоставляет методы разделения видов растений и животных по последовательностям ДНК и может способствовать формированию цельной картины принципов этих методов для организмов разных групп. Цитоплазматические маркеры, соответствующие кодирующим участкам ДНК – *COI* (для животных) и *rbcL+matK* (для растений), дают хорошо читаемые сиквенсы, и поэтому они наиболее практичны для разделения видов. Но в отличие от животных, чаще имеющих выраженную границу между внутри- и межвидовым разнообразием, для растений эта граница более размыта, а дивергенция между близкими формами относительно мала. Поэтому в ряде случаев разделение близких видов связано с использованием более вариабельных межгенных спейсеров в ДНК хлоропластов. Внутренние транскрибируемые спейсеры генов рРНК более эффективны для разделения видов как растений, так и животных, но наличие нескольких блоков генов рРНК в геноме с различными вариантами последовательности *ITS1* и *ITS2* ограничивает возможность получения качественных прочтений и, как следствие, применение этих участков генома для разделения видов. В случае с животными в качестве более удобной для прочтения замены спейсерам генов рРНК предлагаются вариабельные участки, относящиеся к 28S рДНК, – *D2* или *D1-D2*. По-видимому, наиболее удачна для разделения видов комбинация ядерных и цитоплазматических маркеров. В любом случае важно соотносить расхождение по ДНК-маркерам с реально существующими объектами исследования – их ареалами, особенностями микрогеографического распространения, поведения и тому подобными. Если же за небольшим расхождением по ДНК-маркерам не прослеживается связи с расхождением по другим видовым критериям, то придание ДНК-формам видового статуса мало обосновано.

## Список литературы / References

- Ваулин О.В., Новиков Ю.М. Географическая изменчивость *ITS2* рДНК и *COI* мтДНК и криптические виды малярийного комара *Anopheles messeae* Fall. (Diptera: Culicidae). *Информационный вестник ВОВУС*. 2010;14(3):546-157.
- [Vaulin O.V., Novikov Yu.M. Geographical variability of *ITS2* rDNA and *COI* mtDNA and cryptic species of mosquito *Anopheles messeae* Fall. (Diptera: Culicidae). *Informatsionnyy vestnik VOGiS = Herald Vavilov Society Genetics Breeding*. 2010;14(3):546-557. (In Russian)]
- Ваулин О.В., Новиков Ю.М. Филогенетические связи между палеоарктическими видами *Anopheles* комплекса *maculipennis* (Diptera: Culicidae), установленные при использовании разных методов. Проблема консенсуса. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016;20(5):695-703. DOI 10.18699/VJ16.189.
- [Vaulin O.V., Novikov Yu.M. Phylogenetic relationships between Palaearctic species of the *Anopheles maculipennis* complex (Diptera: Culicidae) revealed by different approaches and markers. The problem of consensus. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektzii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2016;20(5):695-703. DOI 10.18699/VJ16.189. (in Russian)]
- Колчанов Н.А., Кочетов А.В., Салина Е.А., Першина Л.А., Хлесткина Е.К., Шумный В.К. Состояние и перспективы использования маркер-ориентированной и геномной селекции растений. *Вестник Российской академии наук*. 2017;87(4):348-354.
- [Kolchanov N.A., Kochetov A.V., Salina E.A., Pershina L.A., Khlestkina E.K., Shumny V.K. Status and prospects of marker-assisted and genomic plant breeding. *Vestnik Rossijskoj Akademii Nauk*. 2017;87(2):125-131. DOI 110.1134/S1019331617020113]
- Матвеева Т.В., Павлова О.А., Богомаз Д.И., Демкович А.Е., Лутова Л.А. Молекулярные маркеры для видоидентификации и филогенетики.



- нетики растений. *Экологическая генетика*. 2011;9(1):32-43. DOI 10.17816/ecogen9132-43.
- [Matveeva T.V., Pavlova O.A., Bogomaz D.I., Demkovich A.E., Lutova L.A. Molecular markers for species identification and phylogenetics of plants. *Ecologicheskaja Genetika*. 2011;9(1):32-43. DOI 10.17816/ecogen9132-43. (in Russian)]
- Сибатаев А.К., Шабанова Ю.В. Морфология малярийных комаров комплекса *Anopheles maculipennis* на территории России. В: Научно-практическое руководство по малярии (эпидемиология, систематика, генетика). Науч. ред. В.Н. Стегний. Томск: ТГУ, 2007;146-186. [Sibataev A.K., Shabanova Yu.M. Morphology of malaria mosquitoes of the *Anopheles maculipennis* complex on the territory of Russia]. In: Science-Practice guide of malaria (epidemiology, systematics, genetics) Science ed. V.N. Stegnii. Tomsk, TSU, 2007;146-186. (in Russian)]
- Шеховцов С.В., Ермолов С.А., Держинский Е.А., Полубаярова Т.В., Ларичева М.С., Пельтек С.Е. Генетическая и размерная изменчивость *Octolasion tyrtaeum* (Lumbricidae, Annelida). *Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2020;6(1):5-9. DOI 10.18699/Letters2020-6-01.
- [Shekhovtsov S.V., Ermolov S.A., Derzhinsky Ye.A., Poluboyarova T.V., Laricheva M.S., Peltek S.E. Genetic and body size variation in *Octolasion tyrtaeum* (Lumbricidae, Annelida). *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;6(1):5-9. DOI 10.18699/Letters2020-6-01. (in Russian)]
- Beebe N.W., Maung J., van den Hurk A.F., Ellis J.T., Cooper R.D. Ribosomal DNA spacer genotypes of the *Anopheles bancroftii* group (Diptera: Culicidae) from Australia and Papua New Guinea. *Insect Mol Biol*. 2001;10(5):407-413. DOI 10.1046/j.0962-1075.2001.00278.x.
- Besansky N.J., Powell J.R., Caccione A., Hamm D.M., Scott J.A., Collins F.H. Molecular phylogeny of the *Anopheles gambiae* complex suggests genetic introgression between principal malaria vectors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91(15):6885-6888. DOI 10.1073/pnas.91.15.6885.
- Billet K., Genitoni J., Bozec M., Renault D., Barloy D. Aquatic and terrestrial morphotypes of the aquatic invasive plant, *Ludwigia grandiflora*, show distinct morphological and metabolomic responses. *Ecol Evol*. 2018;8(5):2568-2579. DOI 10.1002/ece3.3848.
- Birky C.W. Jr. The inheritance of genes in mitochondria and chloroplasts: laws, mechanisms, and models. *Annu Rev Genet*. 2001;35:125-148. DOI 10.1146/annurev.genet.35.102401.090231.
- Bourguet D., Fonseca D., Vourch G., Dubois M.P., Chandre F., Severini C., Raymond M. The acetylcholinesterase gene *Ace*: a diagnostic marker for the Papiens and Quinquesciatus forms of the *Culex pipiens* complex. *J Am Mosq Control Assoc*. 1998;14(4):390-396.
- Cabelin V.L., Alejandro G.J. Efficiency of *matK*, *rbcl*, *trnH-psbA*, and *trnL-F* (cpDNA) to molecularly authenticate philippine ethnomedicinal apocynaceae through DNA barcoding. *Pharmacogn Mag*. 2016;12(Suppl 3):S384-S388. DOI 10.4103/0973-1296.185780.
- CBOL Plant Working Group. A DNA barcode for land plants. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106(31):12794-7. DOI 10.1073/pnas.0905845106.
- Coleman A.W. Is there a molecular key to the level of "biological species" in eukaryotes? A DNA guide. *Mol Phylogenet Evol*. 2009;50(1):197-203. DOI 10.1016/j.ympev.2008.10.008.
- Costa J.Y., Forni-Martins E.R. A triploid cytotype of *Echinodorus tenellus*. *Aqua Bot*. 2004;79:325-332.
- Fontaine M.C., Pease J.B., Steele A., Waterhouse R.M., Neafsey D.E., Sharakhov I.V., Jiang X., Hall A.B., Catteruccia F., Kakani E., Mitchell S.N., Wu Y.C., Smith H.A., Love R.R., Lawniczak M.K., Slotman M.A., Emrich S.J., Hahn M.W., Besansky N.J. Extensive introgression in a malaria vector species complex revealed by phylogenomics. *Science*. 2015;347(6217):1258524. DOI 10.1126/science.1258524.
- Gao T., Yao H., Song J., Zhu Y., Liu C., Chen S. Evaluating the feasibility of using candidate DNA barcodes in discriminating species of the large Asteraceae family. *BMC Evol Biol*. 2010;10:324. DOI 10.1186/1471-2148-10-324.
- Ghahramanzadeh R., Esselink G., Kodde L.P., Duistermaat H., van Valkenburg J.L.C.H., Marashi S.H., Smulders M.J.M., van de Wiel C.C.M. Efficient distinction of invasive aquatic plant species from non-invasive related species using DNA barcoding. *Mol Ecol Resour*. 2013;13:21-31. DOI 10.1111/1755-0998.12020.
- Hackett B.J., Gimign J., Guelbeogo W., Costantini C., Koekemoer L.L., Coetzee M., Collins F.H., Besansky N.J. Ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS2) sequences differentiate *Anopheles funestus* and *An. rivulorum*, and uncover a cryptic taxon. *Insect Mol Biol*. 2000;9(4):369-374. DOI 10.1046/j.1365-2583.2000.00198.x.
- Han Y.W., Duan D., Ma X.F., Jia Y., Liu Z.L., Zhao G.F., Li Z.H. Efficient identification of the forest tree species in aceraceae using DNA barcodes. *Front Plant Sci*. 2016;16(7):1707. DOI 10.3389/fpls.2016.01707.
- Harbach R.E. The classification of genus *Anopheles* (Diptera: Culicidae): a working hypothesis of phylogenetic relationships. *Bull Entomol Res*. 2004;94(6):537-553. DOI 10.1079/ber2004321.
- Hebert P.D., Cywinska A., Ball S.L., de Waard J.R. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc Biol Sci*. 2003;270(1512):313-321. DOI 10.1098/rspb.2002.2218.
- Hebert P.D., Stoeckle M.Y., Zemlak T.S., Francis C.M. (2004) Identification of Birds through DNA Barcodes. *PLoS Biol*. 2004;2(10):e312. DOI 10.1371/journal.pbio.0020312.
- Herden T., Friesen N. Ecotypes or phenotypic plasticity – The aquatic and terrestrial forms of *Helosciadium repens* (Apiaceae). *Ecol Evol*. 2019;9(24):13954-13965. DOI 10.1002/ece3.5833.
- Hernández-Triana L.M., Crainey J., Hall A., Fatih F., Mackenzie-Dodds J., Shelley A., Zhou X., Post R., Gregory T.R., Hebert P. DNA barcoding for species identification within the blackfly subgenus *Trichodagmia* Enderlein (Diptera: Simuliidae: *Simulium*) and related taxa in the New World. *Zootaxa*. 2012;3514:43-69.
- Kampen H. Integration of *Anopheles beklemishevi* (Diptera: Culicidae) in a PCR assay diagnostic for palaeartic *Anopheles maculipennis* sibling species. *Parasitol Res*. 2005;97(2):113-117. DOI 10.1007/s00436-005-1392-9.
- Liu J., Shi L., Han J., Li G., Lu H., Hou J., Zhou X., Meng F., Downie S.R. Identification of species in the angiosperm family Apiaceae using DNA barcodes. *Mol Ecol Resour*. 2014;14(6):1231-1238. DOI 10.1111/1755-0998.12262.
- Luo K., Chen S., Chen K., Song J.Y., Yao H., Ma X., Zhu Y.J., Pang X.H., Yu H., Li X.W., Liu Z. Assessment of candidate plant DNA barcodes using the Rutaceae family. *Sci. China Life Sci*. 2010;53:701-708. DOI 10.1007/s11427-010-4009-1.
- Lühken R., Czajka C., Steinke S., Jöst H., Schmidt-Chanasit J., Pfitzner W.P., Becker N., Kiel E., Krueger A., Tannich E. Distribution of individual members of the mosquito *Anopheles maculipennis* complex in Germany identified by newly developed real-time PCR assays. *Med Vet Entomol*. 2016;30(2):144-154. DOI 10.1111/mve.12161.
- Morgan J.A., Morris G.M., Wlodek B.M., Byrnes R., Jenner M., Constantinoiu C.C., Anderson G.R., Lew-Tabor A.E., Molloy J.B., Gasser R.B., Jorgensen W.K. Real-time polymerase chain reaction (PCR) assays for the specific detection and quantification of seven *Eimeria* species that cause coccidiosis in chickens. *Mol Cell Probes*. 2009;23(2):83-89. DOI 10.1016/j.mcp.2008.12.005.
- Nei M., Rooney A.P. Concerted and birth-and-death evolution of multigene families. *Annu Rev Genet*. 2005;39:121-152. DOI 10.1146/annurev.genet.39.073003.112240.
- Schär S., Talavera G., Espadaler X., Rana J.D., Andersen Andersen A., Cover S.P., Vila R. Do Holarctic ant species exist? Trans-Beringian dispersal and homoplasy in the Formicidae. *J Biogeogr*. 2018;45:1917-1928. DOI 10.1111/jbi.13380.
- Sonnenberg R., Nolte A.W., Tautz D. An evaluation of LSU rDNA D1-D2 sequences for their use in species identification. *Frontiers Zool*. 2007;4:6. DOI 10.1186/1742-9994-4-6.
- Yao H., Song J., Liu C., Luo K., Han J., Li Y., Pang X., Xu H., Zhu Y., Xiao P., Chen S. Use of ITS2 region as the universal DNA barcode for plants and animals. *PLoS One*. 2010 Oct 1;5(10):e13102. DOI 10.1371/journal.pone.0013102.
- Zhang Q. Why does biparental plastid inheritance revive in angiosperms? *J Plant Research*. 2010;123(2):201-206. DOI 10.1007/s10265-009-0291-z.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 08.06.2021. После рецензирования 02.07.2021. Принята к публикации 08.07.2021.

 pismavavilov.ru

DOI 10.18699/LettersVJ2021-7-18

Обзор

## Регуляция транспорта натрия в клетках собирательных трубок почки мышей с мутацией *Agouti yellow* ( $A^y$ )

Н.С. Логвиненко<sup>1</sup>, Л.Е. Каткова<sup>1</sup>, Е.И. Соленов<sup>1, 2, 3</sup>, Г.С. Батурина<sup>1, 2</sup>

**Аннотация:** Исследовали механизм минералокортикоидной регуляции и негеномный эффект альдостерона на транспорт натрия в главных клетках собирательных трубок кортикального отдела почек мышей с мутацией *Agouti yellow* ( $A^y$ ), связанной с ожирением меланокортинового типа. Определение концентрации альдостерона в плазме крови, а также содержания мРНК минералокортикоидного рецептора и альфа1 субъединицы Na,K-АТФазы в клетках собирательных трубок кортикального отдела почек не выявило отличий у мышей линии *C57BL/6j-A<sup>y</sup>/a* от уровня в конгенной линии *C57BL/6j*. В то же время содержание мРНК альфа субъединицы эпителиального натриевого канала в клетках собирательных трубок кортикального отдела почек оказалось ниже у *C57BL/6j-A<sup>y</sup>/a*. У мышей *C57BL/6j-A<sup>y</sup>/a* не обнаружено снижения проницаемости плазматической мембраны клеток собирательных трубок кортикального отдела почек для ионов натрия при остром воздействии альдостерона (10 нМ), в отличие от мышей конгенной линии *C57BL/6j*. Результаты проведенного исследования позволяют предположить, что мутация  $A^y$  может оказывать влияние на транспорт ионов натрия в клетках собирательных трубок кортикального отдела почек и, возможно, в клетках других типов. Эти данные делают актуальным изучение молекулярных механизмов эффектов мутации  $A^y$  на регуляцию почечной функции.

**Ключевые слова:** альдостерон; почка; транспорт натрия; негеномный эффект альдостерона; ожирение.

**Благодарности:** Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 20-015-00147-а) и бюджетного финансирования по государственному заданию (проект № 0259-2021-0016).

Авторы выражают благодарность ЦКП «Виварий конвенциональных животных» ИЦиГ СО РАН за предоставление животных.

**Для цитирования:** Логвиненко Н.С., Каткова Л.Е., Соленов Е.И., Батурина Г.С. Регуляция транспорта натрия в клетках собирательных трубок почки мышей с мутацией *Agouti yellow* ( $A^y$ ). *Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;7(3):124-129. DOI 10.18699/LettersVJ2021-7-18

Review

## Sodium transport regulation in the kidney collecting duct cells in mice with the *Agouti yellow* ( $A^y$ ) mutation

N.S. Logvinenko<sup>1</sup>, L.E. Katkova<sup>1</sup>, E.I. Solenov<sup>1, 2, 3</sup>, G.S. Baturina<sup>1, 2</sup>

**Abstract:** Effects of mutation *Agouti yellow* ( $A^y$ ) linked with melanocortin type of obesity in mice on mineralocorticoid regulation mechanism and non-genomic effect of aldosterone on sodium transport were studied. Measurements of blood plasma aldosterone concentration and of expressions of mineralocorticoid receptor and alpha 1 subunit of Na,K-ATPase in cortical collecting ducts (CCD) of mice *C57BL/6j-A<sup>y</sup>/a* and *C57BL/6j* as congenic strain did not reveal any difference. Study of expression of epithelial sodium channel alpha-subunit (ENaC) that takes a part in sodium transport in principal cells of CCD have shown decreased mRNA contents of these protein in mice *C57BL/6j-A<sup>y</sup>/a*. In *C57BL/6j-A<sup>y</sup>/a* mice, there was no decrease in the permeability of the CCD cell plasma membrane for sodium ions

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия


<sup>2</sup> Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия


<sup>3</sup> Новосибирский государственный технический университет, Новосибирск, Россия

<sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup> Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

<sup>3</sup> Novosibirsk State Technical University, Novosibirsk, Russia

 ninlo@bionet.nsc.ru, baturina@bionet.nsc.ru

 © Логвиненко Н.С., Каткова Л.Е., Соленов Е.И., Батурина Г.С., 2021

under acute exposure to aldosterone (10 nM), in contrast to mice of the *C57BL/6j* congenic line. Based on the results of the entire study, one can suppose that the *A<sup>y</sup>* mutation may affect the transport of sodium ions in CCD cells and possibly in other types of cells. These findings make actual studies of molecular mechanisms of the effects of *A<sup>y</sup>* mutation on the regulation of renal function.

**Key words:** aldosterone; kidney; sodium transport; non-genomic effect of aldosterone; obesity.

**For citation:** Logvinenko N.S., Katkova L.E., Solenov E.I., Baturina G.S. Sodium transport regulation in the kidney collecting duct cells in mice with the *Agouti yellow* (*A<sup>y</sup>*) mutation. *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;7(3):124-129. DOI 10.18699/LettersVJ2021-7-18 (in Russian)

## Введение

Альдостерон является основным агонистом, активирующим минералокортикоидные рецепторы (МР), которые локализованы в дистальных сегментах нефронов и собирательных трубках почек, а также в кардиомиоцитах, сосудистом эпителии, мозге, адипоцитах и других тканях (Guo et al., 2008; Funder, 2013). Нами и другими исследователями показано, что альдостерон, помимо длительного геномного механизма действия через МР и регуляцию экспрессии эпителиального натриевого канала (ENaC) и Na,K-АТФазы, оказывает и быстрый негеномный эффект на транспорт ионов натрия в главных клетках кортикальных отделов собирательных трубок почки (CCD) (Wehling et al., 1996; Wehling, 2005; Логвиненко и др., 2006, 2008).

Известно, что ожирение часто сопровождается функциональными нарушениями сердечно-сосудистой системы, почек, а также затрагивает минералокортикоидную регуляцию. Развитие ожирения сопряжено с изменениями в регуляции электролитного обмена организма и сопровождается увеличением уровня альдостерона в крови, повышенной экспрессией МР не только в почках, но и в сердце, сосудах, что может отражаться на водно-электролитном равновесии организма в целом (Sowers et al., 2009; Funder, 2010; Gomez-Sanchez, 2015).

Помимо диет-зависимого ожирения, существуют его наследственно обусловленные формы, среди которых наиболее часто встречается меланокортиновый тип. Он связан с мутациями, затрагивающими меланокортиновые рецепторы, которые снижают функцию меланокортиновой системы (Fan et al., 2000; Farooqi et al., 2003). Мыши гетерозиготные по мутации Агути–*Agouti yellow* (*A<sup>y</sup>*-мыши) – широко распространенная генетическая модель животных с меланокортиновым типом ожирения. Исследования показали, что мыши *A<sup>y</sup>* характеризуются повышенным уровнем в крови лептина, инсулина, глюкозы, а также сахарным диабетом 2-го типа во взрослом состоянии (Fan et al., 2000; Бажан и др., 2007). Однако основные молекулярные механизмы минералокортикоидной регуляции и, в частности, негеномных эффектов альдостерона на уровне клетки при этом типе генетически детерминированного ожирения остаются неизученными. Цель нашего исследования – определение содержания мРНК минералокортикоидных рецепторов, альфа субъединицы ENaC, альфа 1 субъединицы Na,K-АТФазы и быстрых негеномных эффектов альдостерона в клетках кортикального отдела собирательных трубок почки у мышей линии *A<sup>y</sup>*(*C57BL/6j-A<sup>y</sup>/a*) с генетически обусловленным меланокортиновым типом ожирения.

## Материалы и методы

Исследование проводили в соответствии с принципами Базельской декларации и рекомендациями межинститутской комиссии по биоэтике при Институте цитологии и генетики СО РАН. В экспериментах использовали ткани взрослых самцов (6–7 мес) мышей линии *C57BL/6j-A<sup>y</sup>/a* и конгенного контроля *C57BL/6j* из конвенционального вивария ИЦиГ СО РАН (RFMEFI61914X0005 и RFMEFI61914X0010). Исследуемые мыши содержались на стандартной диете и не подвергались экспериментальному развитию диетарного ожирения.

**Измерение концентрации альдостерона в крови.** Уровень альдостерона в плазме крови мышей линий *C57BL/6j-A<sup>y</sup>/a* и *C57BL/6j* определяли иммуноферментным методом (Mouse Aldosterone (ALD) ELISA kit, Invitrogen) согласно инструкции производителя.

**Метод ПЦР в режиме реального времени.** Уровень мРНК минералокортикоидных рецепторов, альфа субъединицы эпителиального натриевого канала ( $\alpha$ ENaC), альфа1 субъединицы Na,K-АТФазы (Na,K-АТФаза  $\alpha$ 1) изучали в кортикальном отделе почки методом ПЦР в режиме реального времени. Сразу после извлечения ткань помещали в жидкий азот, затем хранили при  $-70^{\circ}\text{C}$ . Тотальную РНК выделяли из замороженных тканей с помощью реагента TRIzol (Ambion, США) согласно протоколу производителя. Протокол обратной транскрипции описан нами ранее (Ivanova et al., 2013). Полимеразную цепную реакцию проводили на амплификаторе CFX96 real-time PCR (BioRad, США) с использованием «Набора реагентов для проведения ПЦР-РВ в присутствии EVA Green» (Синтол, Россия) в объеме 25 мкл. Температурный профиль для ПЦР в режиме реального времени:  $95^{\circ}\text{C}$  5 мин, 39 циклов  $60^{\circ}\text{C}$  45 с,  $80^{\circ}\text{C}$  5 с,  $95^{\circ}\text{C}$  15 с. В качестве гена внутреннего контроля использовали бета актин. Данные анализировали с помощью пакета программ CFXQ13 Manager Software version 1.5 (Bio-Rad). Последовательности праймеров для ПЦР приведены в табл. 1. Специфичность амплификации фрагментов кДНК интересующих нас генов при проведении ПЦР анализа в режиме реального времени была подтверждена прямым секвенированием продуктов ПЦР по Сэнгеру в ЦКП «Геномика» Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН.

**Измерение внутриклеточной концентрации натрия в главных клетках кортикального отдела собирательных трубок почки.** В работе использовали фрагменты кортикального отдела собирательной трубки почки (CCD), полученные методом микродиссекции, по методике, опубликованной в нашей предыдущей работе (Logvinenko et al., 2013). Внутриклеточную концентрацию натрия в главных клетках CCD измеряли с помощью непрерывной регистра-

**Таблица 1.** Последовательности специфических праймеров для проведения ПЦР в режиме реального времени

Ген	Последовательность		Литературный источник
	прямая	обратная	
<i>MP</i>	TTCGGAGAAAGAACTGTCCTG	CCCAGCTTCTTTGACTTTTCG	
<i>αENaC</i>	ACCCCGTGAGTCTCAACATC	CCTGGCGAGTGTAGGAAGAG	(Czogalla et al., 2016)
<i>β-актин</i>	CCACCGATCCACACAGAGTACTT	GACAGGATGCAGAAGGAGATTACTG	
<i>Na,K-ATФаза α1</i>	TTTCAGAACGCCTACCTAGAGC	TGGAGATAAGACCCACGAAGC	(Wang et al., 2015)

ции внутриклеточного флуоресцентного индикатора ионов натрия Sodium Green (Molecular probes, USA) при резком изменении содержания натрия в омывающей среде (146 и 14 мМ), как это нами описано ранее (Логвиненко и др., 2006). Гипонатриевую среду (14 мМ  $Na^+$ ) готовили на основе PBS (137 мМ NaCl, 4.5 мМ  $Na_2HPO_4$ , 2.7 мМ KCl, 1.5 мМ  $KH_2PO_4$ , 0.5 мМ  $MgCl_2$ , 5.5 мМ глюкозы, 1.0 мМ  $CaCl_2$ ), в котором часть натрия замещали 132 мМ n-methyl-D-glucamine (Merck, Germany). Альдостерон добавляли в омывающий раствор в концентрации 10 нМ, омывающий раствор сменялся в течение 100 мс. Изменения содержания внутриклеточного натрия выражали в относительных величинах флуоресценции внутриклеточного красителя Sodium Green (F/F<sub>0</sub>). Флуоресценцию Sodium Green непрерывно регистрировали с помощью фоторегистратора на основе ФЭУ-72, установленного на флуоресцентном микроскопе Axiovert 40 CFL (комплект фильтров 09, Zeiss, Germany). Измерения производили с помощью USB осциллографа Актаком АСК-3102 с записью на компьютер. Начальные участки профилей величин относительной флуоресценции, отражающие процесс входа ионов натрия в клетку, аппроксимировали линейной функцией. В качестве числового параметра, отражающего скорость входа натрия в клетку использовали коэффициент регрессии линейной аппроксимации начального участка кривой флуоресценции.

**Статистический анализ.** Статистическую обработку результатов проводили с помощью парного *t*-критерия Стьюдента. Соответствие полученных значений флуоресценции нормальному распределению определяли с помощью программы Statistica 6.1 и теста Shapiro–Wilk.

## Результаты и обсуждение

Из результатов измерения уровня мРНК *MP* в коре почек мышей *C57BL/6j* и *C57BL/6j-A<sup>y</sup>/a* видно (рис. 1), что нет статистически значимых отличий этого показателя у линии *C57BL/6j-A<sup>y</sup>/a* от уровня конгенной линии. Известно, что альдостерон и *MP* активно участвуют в регуляции различных систем организма, особенно в активности сердечно-сосудистой системы и функции почек (Zhang et al., 2007; Dorrance, 2014). При диетарном типе ожирения показано повышение активности *MP* рецепторов в этих тканях (Gomez-Sanchez, 2009; Sowers et al., 2009; Young, Rickard, 2015). Оно, по-видимому, обусловлено эффектом повышенной активности механизма минералокортикоидной регуляции. Однако у мышей мутация  $A^y$ , способствующая ожирению меланокортинового типа, не сопровождается существенным изменением в со-

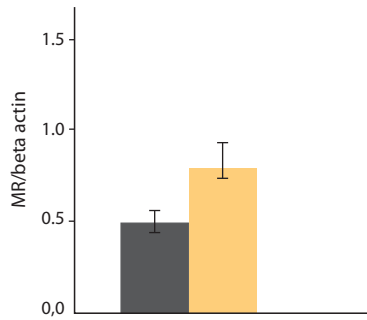
держании мРНК минералокортикоидных рецепторов в коре почек. Альдостерон – наиболее активный регулятор механизма минералокортикоидной регуляции электролитного обмена организма, и уровень этого гормона в плазме крови у исследуемых линий мышей служит важным показателем ее функционального состояния. Измерение концентрации альдостерона в плазме крови, проведенное в настоящем исследовании, не выявило статистически значимых отклонений этого показателя у мышей с мутацией  $A^y$  (рис. 2).

Уровень альдостерона в крови мышей линии *C57BL/6j* хорошо совпадает с литературными данными, которые соответствуют нормальным животным без ожирения. При диетарном ожирении концентрация альдостерона может резко возрастать до 400 пг/мл и выше (Schäfer et al., 2013). Однако в нашем исследовании у мышей *C57BL/6j-A<sup>y</sup>/a* достоверного повышения уровня альдостерона в крови не наблюдалось, что, возможно, объясняется отсутствием у них высококалорийной диеты.

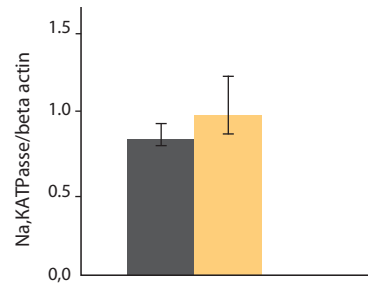
Одним из основных по значимости альдостерон-зависимых белков, участвующих в реабсорбции натрия и секреции ионов калия в главных клетках CCD почек, является базолатерально расположенный натриевый насос, или Na,K-ATФаза. Na,K-ATФаза экспрессируется во всех живых клетках, обеспечивая разность электрических потенциалов на плазматической мембране клетки. У мышей *C57BL/6j-A<sup>y</sup>/a* уровень мРНК альфа1 субъединицы Na,K-ATФазы не различается в коре почек мышей *C57BL/6j-A<sup>y</sup>/a* и *C57BL/6j* (рис. 3).

Эпителиальный натриевый канал ENaC также является функционально значимым альдостерон-зависимым белком главных клеток кортикального отдела собирательных трубок, принимающим участие в реабсорбции натрия. Оценка его экспрессии важна в понимании особенностей регуляции транспорта натрия в почках мышей. Содержание мРНК альфа1 субъединицы ENaC в собирательных трубках почек у мышей *C57BL/6j-A<sup>y</sup>/a* снижено (рис. 4). Можно предположить, что пониженная реабсорбция натрия почками, как возможное следствие сниженной экспрессии мРНК ENaC, способна временно уменьшать тяжесть и сдерживать развитие гипертензии при данном типе наследственного ожирения (Hall et al., 2019).

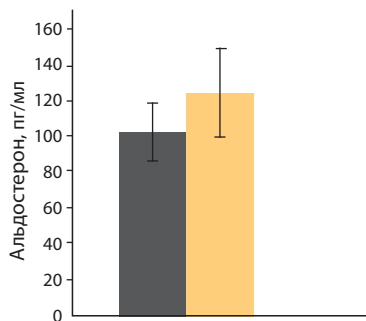
Интересно отметить отсутствие корреляции в содержании мРНК в коре почек генов альфа субъединицы ENaC и *MP* у животных линии *C57BL/6j-A<sup>y</sup>/a* (см. рис. 1). Возможно, это связано с наследственно обусловленными особенностями участия минералокортикоидных рецепторов в долгосрочной геномной регуляции транспорта натрия. Более



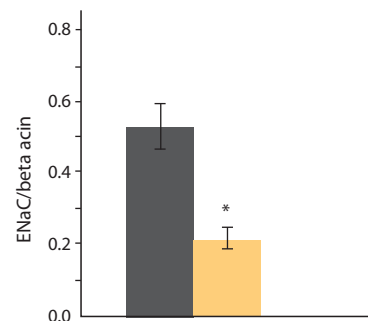
**Рис. 1.** Уровень мРНК минералокортикоидных рецепторов в коре почек мышей *C57Bl/6j* и *C57BL/6j-A<sup>y</sup>/a*. Данные нормализованы на уровень мРНК гена домашнего хозяйства бета актина. Здесь и на рис. 2–4: черный столбец – мыши линии *C57Bl/6j*, желтый – *C57BL/6j-A<sup>y</sup>/a*.



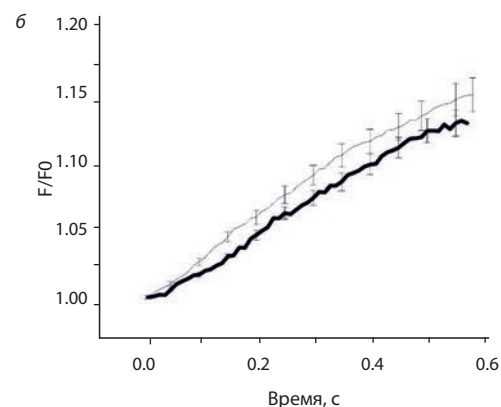
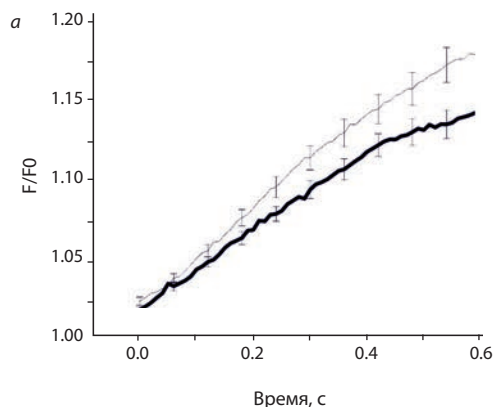
**Рис. 3.** Уровень мРНК альфа1 субъединицы Na,K-АТФазы в коре почек мышей *C57Bl/6j* и *C57BL/6j-A<sup>y</sup>/a*



**Рис. 2.** Концентрация альдостерона в плазме крови (пг/мл) мышей *C57Bl/6j* и *C57BL/6j-A<sup>y</sup>/a*



**Рис. 4.** Уровень мРНК альфа субъединицы ENaC в коре почек мышей *C57Bl/6j* и *C57BL/6j-A<sup>y</sup>/a*. \*  $p < 0.05$



**Рис. 5.** Кинетика входа натрия в главные клетки CCD. Усредненные профили флуоресценции Sodium Green (F/F<sub>0</sub>) в главных клетках мышей *C57Bl/6j* (а) и *C57BL/6j-A<sup>y</sup>/a* (б) при резком повышении содержания натрия в омывающей среде с 14 до 146 мМ ( $n = 30$ ). Серая линия – контроль, черная – альдостерон (10 нМ)

низкий уровень мРНК альфа субъединицы ENaC в главных клетках собирательных трубок почек у мышей с мутацией *A<sup>y</sup>* также может указывать на возможные особенности молекулярных механизмов транспорта ионов натрия в клетках почек у животных этого генотипа.

Как было показано в ряде исследований, в основе большинства патологических изменений почек при ожирении лежат негеномные механизмы действия альдостерона (Cunningham, 2002; Sowers et al., 2009; Declèves, Sharma, 2015). В этой связи нами исследован быстрый, не связанный с

**Таблица 2.** Коэффициент линейной регрессии начального участка кривой флуоресценции Sodium Green ( $(F/F_0)s^{-1}$ ) в главных клетках CCD мышей *C57Bl6/6j* и *C57Bl6/6j-A<sup>y</sup>/a* при изменении уровня натрия в омывающей среде от 14 до 146 мМ. Влияние альдостерона (10 нМ)

Контроль, n = 30		Альдостерон, n = 30	
<i>C57Bl/6j</i>	<i>C57Bl/6j-A<sup>y</sup>/a</i>	<i>C57Bl/6j</i>	<i>C57Bl/6j-A<sup>y</sup>/a</i>
0.32 ± 0.03 (30)	0.30 ± 0.041 (30)	0.25 ± 0.026* (30)	0.26 ± 0.035 (30)

\* $p < 0.05$  – достоверное различие в присутствии альдостерона по сравнению с соответствующим контролем

регуляцией экспрессии генов эффект альдостерона на кинетику транспорта натрия в главных клетках CCD почек изучаемых линий мышей. Для этого мы использовали метод флуоресцентной микроскопии с помощью непрерывной регистрации флуоресценции красителя Sodium Green при резком изменении содержания натрия в омывающей среде (14–146 мМ NaCl) (Логвиненко и др., 2006).

На рис. 5 представлены усредненные профили ( $n = 30$ ) флуоресценции, отражающие внутриклеточный уровень ионов натрия в главных клетках CCD почек в ответ на резкое повышение содержания натрия в омывающей среде. Согласно полученным результатам, клетки CCD мышей линий *C57Bl/6j-A<sup>y</sup>/a* и *C57Bl/6j* обладают близкими значениями скорости входа натрия, но при этом у мышей *C57Bl/6j-A<sup>y</sup>/a* отсутствует быстрый негеномный эффект альдостерона, выражающийся в снижении проницаемости клеток CCD для ионов натрия под действием гормона, как это было показано нами ранее (Логвиненко и др., 2006) и что подтверждается настоящим исследованием (см. рис. 5, табл. 2).

Величина начальной скорости входа ионов натрия в главные клетки собирательных трубок почки мышей *C57Bl/6j* в условиях созданного градиента концентрации близка по значению к данным, опубликованными нами ранее (Логвиненко и др., 2019). Из представленных данных (см. табл. 2) видно, что скорость роста внутриклеточного уровня натрия у мышей с мутацией  $A^y$  в присутствии альдостерона (10 нМ) близка к таковой для интактных мышей и животных конгенной линии *C57Bl/6j* в присутствии альдостерона.

## Заключение

Таким образом, в настоящей работе показано, что для мышей с генетической предрасположенностью к меланокортиновому типу ожирения характерно отсутствие существенных различий по сравнению с конгенной линией *C57Bl/6j* в уровне мРНК MR и альфа1 субъединицы Na,K-АТФазы в почках и подавление негеномного эффекта альдостерона на проницаемость главных клеток CCD для ионов натрия. Ранее нами была показана важная роль эпителиального натриевого канала в реализации этого эффекта альдостерона (Logvinenko et al., 2013, 2016). Более низкий уровень мРНК альфа субъединицы ENaC в почках мышей с мутацией  $A^y$  может свидетельствовать о возможном участии этого канала в молекулярном механизме негеномного эффекта альдостерона на транспорт натрия в клетках почки. Нами впервые

получены данные, свидетельствующие о генетически детерминированных особенностях механизма минералокортикоидной регуляции электролитного обмена у мышей *C57Bl/6j-A<sup>y</sup>/a*, что имеет значение для понимания наследственно обусловленных различий молекулярных механизмов развития почечных и сердечных патологий при меланокортиновом типе ожирения.

## Список литературы / References

- Бажан Н.М., Макарова Е.Н., Шевченко А.Ю., Яковлева Т.В. Повторяющийся эмоциональный стресс препятствует развитию меланокортинового ожирения и диабета 2-го типа у мышей с мутацией *Agouti yellow*. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2007;93(11):1237-1244.
- [Bahzan N.M., Makarova E.N., Shevchenko A.Yu., Yakovleva T. Repeating of emotional stress prevents development of melanocortin obesity and type 2 diabetes in the mice with the *Agouti yellow* mutation. *Russian J Physiol*. 2007;93(11):1237-1244. (in Russian)]
- Логвиненко Н.С., Соленов Е.И., Иванова Л.Н. Быстрый негеномный эффект альдостерона на внутриклеточную концентрацию натрия в дистальном сегменте нефрона крысы. *Доклады Академии наук*. 2006;406(2):252-255.
- [Logvinenko N.S., Solenov E.I., Ivanova L.N. A rapid nongenomic effect of aldosterone on intracellular sodium concentration in the distal nephron segment of the rat. *Doklady Biochemistry Biophysics*. 2006;406(1):7-10.]
- Логвиненко Н.С., Соленов Е.И., Иванова Л.Н. Влияние альдостерона на кинетику внутриклеточного натрия в кортикальном отделе собирательной трубки почки крысы. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2008;146(8):157-161.
- [Logvinenko N.S., Solenov E.I., Ivanova L.N. Effect of aldosterone on kinetics of intracellular sodium in cortical portion of collecting ducts in rat kidney. *Bulletin Experimental Biol Medicine*. 2008;146(8):157-161. (in Russian)]
- Логвиненко Н.С., Каткова Л.Е., Батурина Г.С., Соленов Е.И., Иванова Л.Н. Видовые особенности негеномной реакции главных клеток собирательных трубок почки крыс и мышей на альдостерон. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2019;105(2):191-197. DOI 10.1134/S0869813919020067.
- [Logvinenko N.S., Katkova L.E., Baturina G.S., Solenov E.I., Ivanova L.N. Species differences of aldosterone nongenomic effects on rat and mouse principal cell of kidney cortical collecting tubules. *Russian J Physiol*. 2019;105(2):191-197. (in Russian)]
- Cunningham M.L. A mouse is not a rat is not a human: species differences. *Exist. Toxicol Sci*. 2002;70(2):157-158. DOI 10.1093/toxsci/70.2.157.
- Czogalla J., Vohra T., Penton D., Kirschmann M., Craigie E., Loffing J. The mineralocorticoid receptor (MR) regulates ENaC but not NCC in mice with random MR deletion. *Pflugers Arch*. 2016;468(5):849-858. DOI 10.1007/s00424-016-1798-5.
- Declèves A.E., Sharma K. Obesity and kidney disease: differential effects of obesity on adipose tissue and kidney inflammation and fibrosis. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2015;24(1):28-36. DOI 10.1097/MNH.0000000000000087.

- Dorrance A.M. Interfering with mineralocorticoid receptor activation: the past, present, and future. *F1000Prime Rep.* 2014;6:61. DOI 10.12703/P6-61.
- Fan W., Dinulescu D.M., Butler A.A., Zhou J., Marks D.L., Cone R.D. The central melanocortin system can directly regulate serum insulin levels. *Endocrinol.* 2000;141(9):3072-3079. DOI 10.1210/endo.141.9.7665.
- Farooqi I.S., Keogh J.M., Yeo G.S., Lank E.J., Cheetham T., O'Rahilly S. Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene. *N Engl J Med.* 2003;348(12):1085-1095. DOI 10.1056/NEJMoa022050.
- Funder J.W. Aldosterone and mineralocorticoid receptors: past, present, and future. *Endocrinol.* 2010;151(11):5098-5102. DOI 10.1210/en.2010-0465.
- Funder J.W. Mineralocorticoid receptor antagonists: emerging roles in cardiovascular medicine. *Integr Blood Press Contro.* 2013;6:129-138. DOI 10.2147/IBPC.S13783.
- Gomez-Sanchez C.E. Glucocorticoid production and regulation in thymus: of mice and birds. *Endocrinol.* 2009;150(9):3977-3979. DOI 10.1210/en.2009-0615.
- Gomez-Sanchez C.E. What is the role of the adipocyte mineralocorticoid receptor in the metabolic syndrome? *Hypertension.* 2015;66(1):17-19. DOI 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.05148.
- Guo C., Ricchiuti V., Lian B.Q., Yao T.M., Coutinho P., Romero J.R., Li J., Williams G.H., Adler G.K. Mineralocorticoid receptor blockade reverses obesity-related changes in expression of adiponectin, peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, and proinflammatory adipokines. *Circulation.* 2008;117(17):2253-2261. DOI 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.748640.
- Hall J.E., Carmo J.M., Silva A.A., Wang J., Hall M.E., Obesity, kidney dysfunction and hypertension: mechanistic links. *Nat Rev Nephrol.* 2019;15(6):367-385. DOI 10.1038/s41581-019-0145-4.
- Ivanova L.N., Babina A.V., Baturina G.S., Katkova L.E. Effect of vasopressin on the expression of genes for key enzymes of hyaluronan turnover in Wistar Albino Glaxo and Brattleboro rat kidneys. *Exp Physiol.* 2013;98(11):1608-1619. DOI 10.1113/expphysiol.2013.073163.
- Logvinenko N.S., Solenov E.I., Ivanova L.N. Role of epithelial sodium channel in the realization of homeostatic effects of aldosterone on the volume of principal cells of cortical collecting ducts in rats after hypoosmotic stress. *Bull Exp Biol Med.* 2013;155(5):615-617. DOI 10.1007/s10517-013-2208-z.
- Logvinenko N.S., Gerbek Y.E., Solenov E.I., Ivanova L.N. Fast nongenomic effect of Aldosterone on the volume of principal cells in collecting tube and genetic heterogeneity of epithelial sodium channel in the postnatal ontogenesis of the rat kidney. *Bull Exp Biol Med.* 2016;160(5):691-694. DOI 10.1007/s10517-016-3251-3.
- Schäfer N., Lohmann C., Winnik S., van Tits L.J., Miranda M.X., Vergopoulos A., Ruschitzka F., Nussberger J., Berger S., Lüscher T.F., Verrey F., Matter C.M. Endothelial mineralocorticoid receptor activation mediates endothelial dysfunction in diet-induced obesity. *Eur Heart J.* 2013;34(45):3515-3524. DOI 10.1093/eurheartj/ehd095.
- Sowers J.R., Whaley-Connell A., Epstein M. Narrative Review: The Emerging Clinical Implications of the Role of Aldosterone in the Metabolic Syndrome and Resistant Hypertension. *Ann Intern Med.* 2009;150(11):776-783. DOI 10.7326/0003-4819-150-11-200906020-00005.
- Wang F., Cai B., Li K.C., Hu X.Y., Lu Y.J., Wang Q., Bao L., Zhang X. FXD2, a  $\gamma$  subunit of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase, maintains persistent mechanical allodynia induced by inflammation. *Cell Res.* 2015;25(3):318-334. DOI 10.1038/cr.2015.12.
- Wehling M. Effects of aldosterone and mineralocorticoid receptor blockade on intracellular electrolytes. *Heart Fail Rev.* 2005;10(1):39-46. DOI 10.1007/s10741-005-2347-z.
- Wehling M., Bauer M.M., Ulsenheimer A., Schneider M., Neylon C.B., Christ M. Nongenomic effects of aldosterone on intracellular pH in vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996;223(1):181-186. DOI 10.1006/bbrc.1996.0866.
- Young M.J., Rickard A.J. Mineralocorticoid receptors in the heart: lessons from cell-selective transgenic animals. *J Endocrinol.* 2015; 224(1): R1-13. DOI 10.1530/JOE-14-0471.
- Zhang W., Xia X., Reisenauer M., Rieg T., Lang F., Kuhl D., Vallon V., Kone B.C. Aldosterone-induced Sgk1 relieves Dot1a-Af9-mediated transcriptional repression of epithelial Na<sup>+</sup> channel alpha. *J Clin Invest.* 2007;117(3):773-783. DOI 10.1172/JCI29850.

---

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Соблюдение этических норм.** Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Поступила в редакцию 12.08.2021. После рецензирования 08.09.2021. Принята к публикации 10.09.2021.

 pismavavilov.ru

DOI 10.18699/LettersVJ2021-7-15

Оригинальная статья

## Влияние опушения листьев и направления скрещиваний на устойчивость яровой мягкой пшеницы к мучнистой росе и бурой ржавчине

А.А. Коновалов<sup>1✉</sup>, Е.А. Орлова<sup>2</sup>, Б.Ф. Немцев<sup>2</sup>, Е.Я. Кондратенко<sup>1</sup>

**Аннотация:** Гибридизация устойчивых и неустойчивых к грибным болезням образцов является основным методом получения устойчивых сортов культурных растений. При этом имеет значение ряд дополнительных факторов: направление скрещиваний, морфология растений, год и конкретное место оценки устойчивости/восприимчивости. Скрещивали устойчивый к мучнистой росе и бурой ржавчине сорт яровой мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. Новосибирская 61 (селекция СибНИИРС) и три восприимчивых образца: сорт Скала (селекция бывшей Тулунской ГСС), популяция Хакасская (СИММУТ 2167) и образец спелты *T. spelta* к-53660 из Таджикистана. В большинстве вариантов растения F<sub>1</sub> были устойчивы, однако в варианте, в котором популяция Хакасская использована как материнская форма, наблюдались различия: 17 растений из 21 растения F<sub>1</sub> были устойчивы, а 4 растения – неустойчивы. Анализ расщепления в F<sub>2</sub> проводили отдельно по потомствам от устойчивых и неустойчивых растений F<sub>1</sub>. Анализ расщеплений показал, что в потомстве от устойчивых растений F<sub>1</sub> доминировала устойчивость. В потомствах от неустойчивых растений F<sub>1</sub> большинство растений было восприимчиво к болезням. Такой результат свидетельствует о том, что сорт Хакасская неоднороден по цитоплазматическим детерминантам. Также оценивали влияние опушения листьев от сортообразца Хакасская на степень поражения грибными болезнями. Опушенные растения в потомствах F<sub>2</sub> сильнее поражались мучнистой росой. На устойчивость к бурой ржавчине опушение не влияло. Расщепление по опушению соответствовало дигенному соотношению 13:3 для доминантного эпистаза. Значимая корреляция между устойчивостью к мучнистой росе и устойчивостью к бурой ржавчине отсутствует. Устойчивость к мучнистой росе и бурой ржавчине у сорта Новосибирская 61 наследуется в большинстве случаев как доминантный признак.

**Ключевые слова:** яровая мягкая пшеница; мучнистая роса; бурая ржавчина; устойчивость; опушение листьев; направление скрещиваний.

**Благодарности:** Работа поддержана региональным проектом РФФИ № 19-44-540003р\_а и бюджетным проектом ИЦиГ СО РАН № 0259-2021-0012

**Для цитирования:** Коновалов А.А., Орлова Е.А., Немцев Б.Ф., Кондратенко Е.Я. Влияние опушения листьев и направления скрещиваний на устойчивость яровой мягкой пшеницы к мучнистой росе и бурой ржавчине. *Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;7(3):130-137. DOI 10.18699/LettersVJ2021-7-15

Original article

## Effect of leaf pubescence and direction of crossbreeding on spring bread wheat resistance to powdery mildew and brown rust

A.A. Konovalov<sup>1✉</sup>, E.A. Orlova<sup>2</sup>, B.F. Nemtsev<sup>2</sup>, E.Ya. Kondratenko<sup>1</sup>

**Abstract:** Hybridization of resistant and unstable samples is the main method of producing resistant accession of cultivated plants. At the same time, a number of additional factors are important: the direction of crosses, the morphology of plants, the year and the specific place of assessment of resistance/susceptibility. A cultivar of spring bread wheat *Triticum aestivum* L. Novosibirskaya 61 (breeding SRIPPB), resistant to brown rust and powdery mildew, and three susceptible samples, cultivar Skala, accession Khakasskaya (CIMMYT

<sup>1</sup> Федеральное исследовательское учреждение Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Сибирский научно-исследовательский институт растениеводства и селекции – филиал ИЦиГ СО РАН, Новосибирская область, Новосибирский район, р. п. Краснообск, Россия

<sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup> Siberian Research Institute of Plant Production and Breeding – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Novosibirsk region, Russia

 konov@bionet.nsc.ru

© О.А. Коновалов, Е.А. Орлова, Б.Ф. Немцев, Е.Я. Кондратенко, 2021



2167) and spelt accession к-53660 from Tajikistan were crossed. In most variant, the F<sub>1</sub> plants were resistant, but in the variant where Khakasskaya was used as the mother form, differences were observed: out of 21 plants, 17 plants were F<sub>1</sub> resistant, 4 plants were susceptible. The analysis of segregation was carried out to F<sub>2</sub> generation separately in progeny from resistant and susceptible plants of F<sub>1</sub>. Segregation analysis showed that resistance dominated the offspring from resistant plants of the F<sub>1</sub>. In the progeny from susceptible F<sub>1</sub> plants most plants were susceptible to both diseases. The effect of leaf pubescence from the accession Khakasskaya on the degree of damage was also evaluated. This result indicates that the accession Khakasskaya is heterogeneous in cytoplasmic determinants. Pubescent plants in the F<sub>2</sub> generation more affected by powdery mildew. Resistance to brown rust was not affected by leaf pubescence. The pubescence segregation corresponded to a digenic ratio of 13:3 for dominant epistasis. There was no significant correlation between resistant to powdery mildew and resistance brown rust. Resistance to powdery mildew and brown rust in the cultivar Novosibirskaya 61 is inherited in most cases as a dominant character.

**Key words:** *spring bread wheat; powdery mildew; brown rust; resistance; leaf pubescence; direction of crossbreeding.*

**For citation:** Konovalov A.A., Orlova E.A., Nemtsev B.F., Kondratenko E.Ya. Effect of leaf pubescence and direction of crossbreeding on spring bread wheat resistance to powdery mildew and brown rust. *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;7(3):130-137. DOI 10.18699/LettersVJ2021-7-15 (in Russian)

## Введение

Один из способов получения экологически чистой продукции – создание устойчивых к патогенам сортов сельскохозяйственных растений. Это также позволяет снизить пестицидную нагрузку на агроценозы. Создание устойчивых сортов возможно путем передачи в них устойчивости к грибным инфекциям от устойчивых сортообразцов. При проведении гибридизации имеет значение ряд дополнительных факторов, таких как направление скрещиваний, морфология растений, год и место оценки по признаку «устойчивости/восприимчивости».

Несмотря на достижения в селекции на устойчивость к патогенам, в фитокомплексе пшеницы основными значимыми болезнями все еще остаются бурая ржавчина (возбудитель *Puccinia triticina* Erikss.) и мучнистая роса (возбудитель *Erysiphe graminis* DC., синоним: *Blumeria graminis* (DC) Speer.; пшеницу поражает форма f. sp. *tritici*). Вредоносность этих грибов уменьшает ассимиляционную поверхность пораженных растений. В Новосибирской области поражение растений этими возбудителями отмечается ежегодно. С учетом того что восприимчивые сорта в среднем снижают урожайность от бурой ржавчины не менее чем на 0.5 т/га, потери от этого патогена только по Западной Сибири составляют от 1.5 до 2.0 млн т (Шаманин и др., 2012). Использование химических средств защиты растений не всегда экономически оправдано, поэтому создание устойчивых к патогенам сортов сельскохозяйственных растений является актуальной задачей. Основной способ создания таких сортов – передача признака устойчивости путем гибридизации. В данной работе изучали расщепление по устойчивости к мучнистой росе и бурой ржавчине в потомствах F<sub>2</sub> от скрещивания устойчивого сорта Новосибирская 61 с тремя неустойчивыми сортообразцами, а также оценивали влияние опушения листьев на степень проявления признака «устойчивость/восприимчивость».

## Материал и методы

В качестве родительских форм были использованы устойчивый к мучнистой росе и бурой ржавчине сорт яровой пшеницы Новосибирская 61 (селекция СибНИИРС) и три восприимчивых образца: сорт Скала (селекция бывшей Тулунской ГСС), популяция Хакасская (СИММУТ 2167, [\[wheatpedigree.net/sort/show/75846\]\(http://wheatpedigree.net/sort/show/75846\)\) и образец спельты \*Triticum spelta\* L. к-53660 \(коллекция ВИРа\) из Таджикистана.](http://</a></p></div><div data-bbox=)

Сорт яровой мягкой пшеницы Новосибирская 61 (селекции СибНИИРС) несет эффективные гены устойчивости к грибным болезням от пырея *Thinopyrum intermedium* (Host) Barkworth & D.R. Dewey через сорт Тулайковская 10. Родословная сорта:

Эритросперум 865 × АГИС 1  
↓  
(Веллозум 1381 × Альбидум 653) × Тулайковская 5  
↓  
Новосибирская 15 × Тулайковская 10  
↓  
Новосибирская 61

АГИС 1 – замещенная пшенично-пырейная линия, созданная во Всероссийском научно-исследовательском институте фитопатологии М.Е. Синиговцом (1976, 1987). Сорт Новосибирская 15 получен методом ступенчатой гибридизации [(Безенчукская 98 × Иртышанка 10) × Тулунская 10] × Новосибирская 22. Этот сорт сильно восприимчив к бурой ржавчине и мучнистой росе. Анализируя родословную, мы предположили, что устойчивость к листовым болезням у Новосибирской 61 только от устойчивого сорта Тулайковская 10, который несет гены устойчивости от пырея (*LrAgi*) (<https://samniish.ru/pshenica-myagkaya-yarovaya-sort-tulajkovskaya-10.html>).

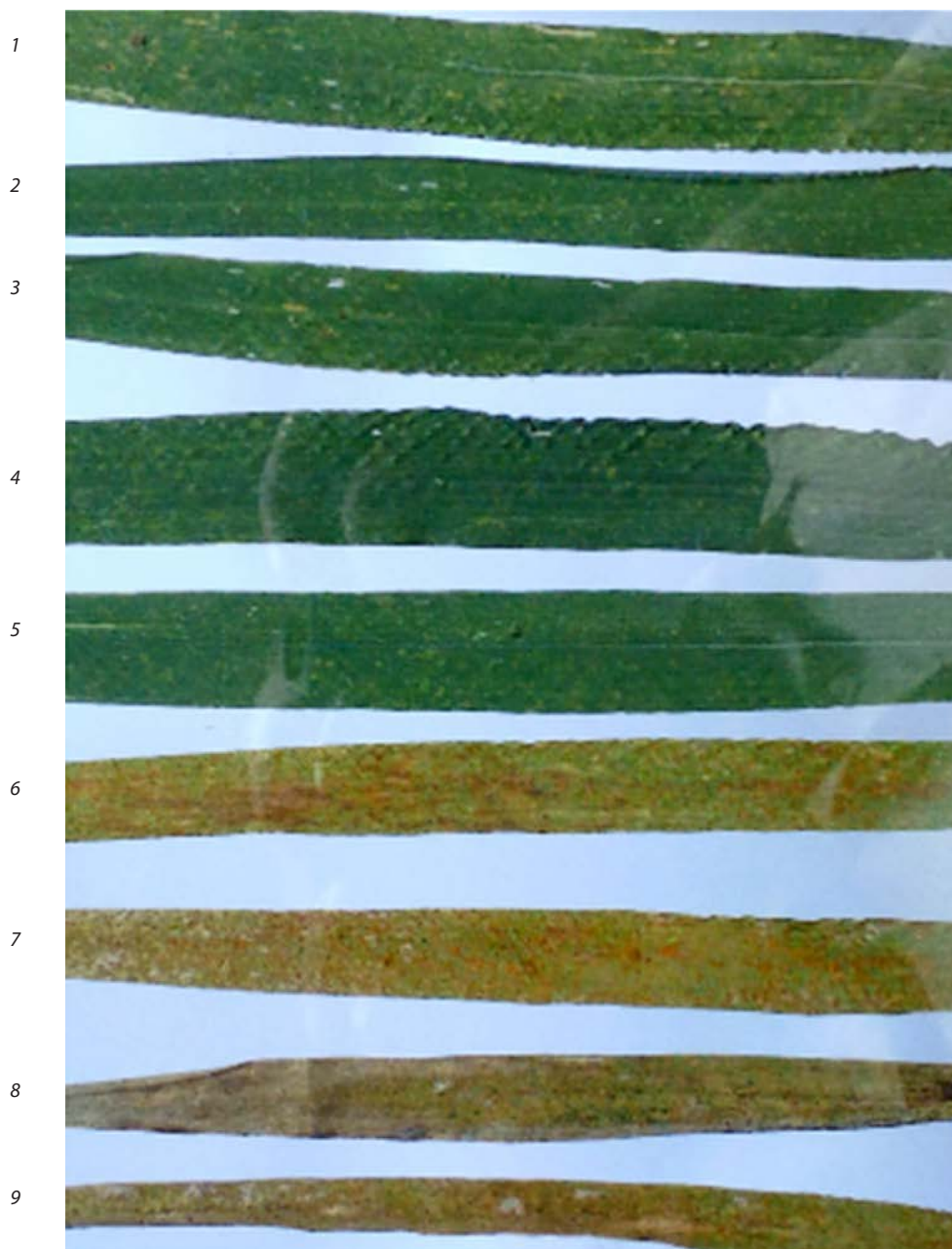
Гибриды F<sub>1</sub> были получены зимой в теплице и высеяны на инфекционном поле весной 2018 г., потомства F<sub>2</sub> были высеяны на том же инфекционном поле весной 2019 г. Посев семян гибридов и родительских сортов (по 25–30 зерновок) проводили вручную, рядами длиной 0,5 м. Устойчивость растений к болезням определяли на инфекционном поле СибНИИРС, севооборот пар-пшеница, растения инокулировали местной популяцией возбудителей бурой ржавчины и мучнистой росы. Устойчивость к мучнистой росе оценивали в баллах, к устойчивым относили растения с поражением 0.1 и 2.0 балла (Saari, Prescott, 1975; Лебедева, Зуев, 2018). Оценку устойчивости гибридов бурой ржавчиной оценивали по двум показателям: типу реакции образца (балл по шкале: Mains, Jackson, 1926), где 0 – иммунный; 0; – единичные хлоротичные пятна; 1 – высокоустойчивый; 2 – среднеустойчивый; 3 – средневосприимчивый; 4 – сильно восприимчивый

и интенсивности поражения растений (% по шкале Peterson et al., 1948), где 9 – очень высокая устойчивость, признаки поражения отсутствуют; 8 – очень высокая устойчивость, единичные хлоротичные или некротные пятна, возможно с очень мелкими урединиями, с интенсивностью проявления до 5%; 7 – устойчивость, мелкие или средние урединии в хлорозных или некротных пятнах, поражение до 10%; 6 – устойчивость, мелкие или средние урединии в хлорозных или некротных пятнах, поражение до – 15%; 5 – слабая восприимчивость, поражение до 25%; 4–3 – восприимчивость, поражение до 40–65%; 2–1 – высокая и очень высокая вос-

приимчивость, поражение до 90–100% (Методы..., 2012). Для статистической обработки данные сгруппировали в два класса: 9–6 – устойчивые; 5 и менее – восприимчивые. Достоверность оценивали по критерию Пирсона  $\chi^2$ .

### Результаты

В большинстве гибридных комбинаций  $F_1$  наблюдали полное доминирование устойчивости к бурой ржавчине (рис. 1) как в прямых, так и в обратных скрещиваниях ( $h_r = 1$ ). Однако в варианте, в котором Хакасскую использовали как материнскую форму, есть различия: 17 из 21 растения  $F_1$  были



**Рис. 1.** Фенотипы растений  $F_1$  по устойчивости к бурой ржавчине. Сверху вниз: Новосибирская 61;  $F_1$  (Н61 × Скала);  $F_1$  (Скала × Н61);  $F_1$  (Н61 × Хакасская);  $F_1$  (Хакасская × Н61) устойчивый;  $F_1$  (Хакасская × Н61) восприимчивый; Хакасская; *T. spelta* к- 53660; Скала. № 1–5 – устойчивые; № 6–9 – восприимчивые

**Таблица 1.** Поражение растений в потомствах  $F_2$  мучнистой росой, полевая оценка 2019 и 2020 гг.

Потомство	Поражение, балл					Всего растений	$\chi^2$
	0	1	2	3	4		
2019 г.							
$F_1$ устойчивый	52	33	0	9	0	94	15:1
$F_2$ (Н61 × Скала)							1.77
$F_1$ устойчивый	58	30	0	2	0	90	15:1
$F_2$ (Скала × Н61)							2.49
$F_1$ устойчивый	58	9	0	23	0	90	3:1
$F_2$ (Н61 × Хакас)							0.01
$F_1$ устойчивый	46	6	1	22	1	76	3:1
$F_2$ (Хакас × Н61)							1.12
$F_1$ восприимчивый	2	7	1	24	44	78	–
$F_2$ (Хакас × Н61)							
$F_1$ без оценки	24	9	0	5	9	47	3:1
$F_3$ (Н61 × спельта)							0.57
2020 г.							
$F_1$ устойчивый							3:1
$F_2$ (Хакас × Н61)	23		1	1	16	41	5.93
							9:7
							0.09
$F_1$ восприимчивый			1		24	25	–
$F_2$ (Хакас × Н61)							

Примечание. Здесь и в табл. 2–5: Н61 – Новосибирская 61, Хакас – Хакасская

устойчивы, 4 растения неустойчивы. Поэтому анализ расщепления в  $F_2$  проводили отдельно в потомствах от устойчивых и неустойчивых растений  $F_1$ . Потомства  $F_2$  были высеяны на том же инфекционном поле весной 2019 г., в июне того же года проведена оценка степени поражения растений мучнистой росой (табл. 1).

Анализ расщеплений показал, что в потомстве от устойчивых растений  $F_1$  доминировала устойчивость. В варианте со Скалой соотношение соответствовало дигенному 15:1, в варианте с Хакасской и спельтой – моногенному 3:1. В потомстве от восприимчивых растений преобладали восприимчивые растения. Такой результат свидетельствует о том, что популяция Хакасская неоднородна по цитоплазматическим детерминантам. Данные 2020 г., полученные на том же поле в тех же потомствах  $F_2$ , в основном подтвердили данные 2019 г. Наблюдаемые различия вызваны, по-видимому, разницей погоды и инфекционного фона. Явно выраженный хиатус (разрыв) между группами устойчивых и восприимчивых растений свидетельствует о качественном наследовании. При количественном наследовании наблюдается, как правило, непрерывное нормальное или лог-нормальное распределение фенотипов по степени поражения.

В 2020 г. отмечен избыток восприимчивых растений. Интересно, что соотношение классов расщепления соответствует дигенному соотношению 9:7 ( $\chi^2 = 0.09$ ), в противоположность тому, что в 2019 г. получено точное соотношение 3:1. В этой связи можно упомянуть известную теорию В.А. Драгавцева о перераспределении генетической формулы признака в разных условиях (Генетика..., 1984; Драгавцев,

Драгавцева, 2011). Однако малая выборка не позволяет сделать обоснованный вывод. В потомстве  $F_2$  от восприимчивого растения  $F_1$  также видим большее число пораженных растений по сравнению с предыдущим годом. Эти результаты указывают, что инфекционный фон в разные годы существенно влияет на соотношение классов расщепления. К характерной особенности Хакасской относится сильное опушение листьев (рис. 2).

Растения  $F_1$  были опушенными, в  $F_2$  происходило расщепление в соотношении 13:3, что соответствует дигенному наследованию для доминантного эпистаза ( $\chi^2$  для 13:3 = 0.38). Отмечены различия по степени поражения растений мучнистой росой у опушенных и неопушенных потомков (табл. 2). Сделано предположение, что имеет место проявление пассивного иммунитета, неопушенные растения поражались в меньшей степени, однако с увеличением интенсивности развития болезни разница в поражении растений уменьшалась (см. табл. 2).

При поражении растений бурой ржавчиной численность классов соответствовала моногенному (в варианте со Скалой) и дигенному (в вариантах с Хакасской и спельтой) соотношениям (табл. 3). Отмечали ту же закономерность, что при поражении мучнистой росой (см. табл. 1): в потомствах от устойчивых растений  $F_1$  преобладали устойчивые формы, от неустойчивых растений  $F_1$  – восприимчивые. Влияние опушения листьев на устойчивость к бурой ржавчине не обнаружено (табл. 4). При сопоставлении данных табл. 1 и 3 видно, что тип наследования к двум болезням не совпадает. Это подтверждается отсутствием значимых корреляций

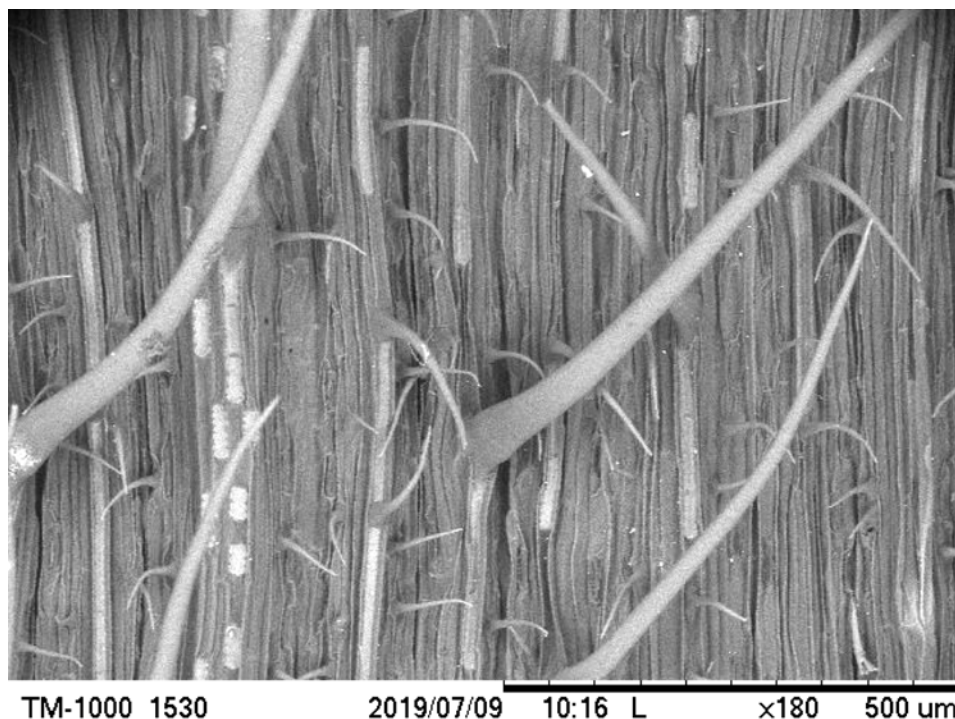


Рис. 2. Опушение пластинки листа образца Хакасская

Таблица 2. Влияние опушения листа на устойчивость к мучнистой росе

Фенотип растения F <sub>1</sub> , потомство F <sub>2</sub>	Всего растений	Опушенные (+)		Неопушенные (-)	
		число растений	среднее по степени поражения, %	число растений	среднее по степени поражения, %
F <sub>1</sub> устойчивый F <sub>2</sub> (Н61 × Хакас)	90	76	7.96 ± 1.24	14	3.93 ± 3.0
F <sub>1</sub> устойчивый F <sub>2</sub> (Хакас × Н61)	76	62	9.34 ± 1.53	14	6.07 ± 3.23
F <sub>1</sub> неустойчивый F <sub>2</sub> (Хакас × Н61)	78	64	35.08 ± 1.70	14	29.29 ± 3.66
Всего по шести потомствам	244	202	16.98	42	13.10
Ожидаемое для 13:3	–	198.25	–	45.75	–
$\chi^2 = 0.38$					

(табл. 5), которое может быть вызвано тем, что на листьях, сильно пораженных мучнистой росой, оставалось мало места для развития бурой ржавчины.

### Обсуждение

В сводке К. Персона и Г. Сидху (1974) в 862 (95%) из 912 рассмотренных работ устойчивость к грибным болезням доминировала над восприимчивостью. Отмечено также, что устойчивость к различным патогенам чаще определяется главными, чем «малыми» генами. В нашей работе устойчивость к мучнистой росе доминировала, но в варианте, в котором восприимчивый образец Хакасская (СМММТ 2167)

использован как материнская форма, 17 растений F<sub>1</sub> были устойчивы, 4 – неустойчивы (см. рис. 1). Поэтому анализ расщепления в F<sub>2</sub> в потомствах от устойчивых и неустойчивых растений F<sub>1</sub> проводился отдельно. Исходя из полученных результатов сделано заключение, что фенотип растения F<sub>1</sub> существенно влияет на расщепление в F<sub>2</sub>, особенно на устойчивость к мучнистой росе (см. табл. 1). В потомствах от неустойчивых растений F<sub>1</sub> большая часть растений в потомствах F<sub>2</sub> поражена на 40% и более площади листа. По бурой ржавчине различия меньше, однако также наблюдается тенденция к сдвигу в сторону менее устойчивых растений (см. табл. 3). Вероятно, популяция Хакасская неоднородна

**Таблица 3.** Поражение растений в потомствах F<sub>2</sub> бурой ржавчиной, полевая оценка 2019 и 2020 гг.

Фенотип F <sub>1</sub> , потомство F <sub>2</sub>	Поражение, балл*					Всего	χ <sup>2</sup>
	9–8	7	6	5	4–3		
2019 г.							
F <sub>1</sub> устойчивый F <sub>2</sub> (Н61 × Скала)	61	4	0	15	6	86	3:1 0.02
F <sub>1</sub> устойчивый F <sub>2</sub> (Скала × Н61)	67	6	0	12	3	88	3:1 2.97
F <sub>1</sub> устойчивый F <sub>2</sub> (Н61 × Хакас)	70	12	1	3	0	86	15:1 1.12
F <sub>1</sub> устойчивый F <sub>2</sub> (Хакас × Н61)	54	5	0	9	1	69	15:1 8.0
F <sub>1</sub> восприимчивый F <sub>2</sub> (Хакас × Н61)	15	50	1	6	1	73	15:1 1.39
F <sub>1</sub> без оценки F <sub>3</sub> (Н61 × спельта)	33	3	0	3	0	39	15:1
2020 г.							
F <sub>1</sub> устойчивый F <sub>2</sub> (Хакас × Н61)	21		4	14		39	– 3:1 2.47
F <sub>1</sub> восприимчивый F <sub>2</sub> (Хакас × Н61)			2	21		23	–

\* Численность выборок в табл. 3 меньше, чем в табл. 1, поскольку со времени оценки мучнистой росы (30.06.2020) до времени оценки бурой ржавчины (14.07.2020) некоторые растения погибли

**Таблица 4.** Влияние опушения листа на устойчивость к бурой ржавчине

Фенотип растения F <sub>1</sub> , потомство F <sub>2</sub>	Всего растений	Опушенные (+)		Неопушенные (–)	
		Число растений	Среднее по устойчивости	Число растений	Среднее по устойчивости
F <sub>1</sub> устойчивый F <sub>2</sub> (Н61 × Хакас)	86	72	2.1 ± 0.66	14	2.2 ± 1.56
F <sub>1</sub> устойчивый F <sub>2</sub> (Хакас × Н61)	69	56	4.6 ± 1.29	13	4.8 ± 2.75
F <sub>1</sub> неустойчивый F <sub>2</sub> (Хакас × Н61)	73	59	8.0 ± 1.03	14	7.9 ± 2.09

**Таблица 5.** Корреляция между устойчивостью к мучнистой росе и устойчивостью к бурой ржавчине

Фенотип растения F <sub>1</sub> , потомство F <sub>2</sub>	Коэффициент корреляции	Всего растений
F <sub>1</sub> устойчивый, F <sub>2</sub> (Н61 × Скала)	0.30	86
F <sub>1</sub> устойчивый, F <sub>2</sub> (Скала × Н61)	0.34	88
F <sub>1</sub> устойчивый, F <sub>2</sub> (Н61 × Хакас)	0.34	86
F <sub>1</sub> устойчивый, F <sub>2</sub> (Хакас × Н61)	0.22	69
F <sub>1</sub> неустойчивый, F <sub>2</sub> (Хакас × Н61)	–0.17	73
F <sub>1</sub> без оценки, F <sub>3</sub> (Н61 × спельта)	–0.05	39

по цитоплазматическим детерминантам, то есть в этой популяции есть по крайней мере два типа цитоплазмы, один из которых способствует устойчивости, другой – восприимчивости. Ряд исследований свидетельствует, что функциональное состояние митохондрий заметно влияет на устойчивость растений к патогенам (Рубин и др., 1975).

В литературных источниках встречаются противоречивые сведения о влиянии опушения листьев на устойчивость растений к патогенам. Различная степень опушенности листа у 19 видов костреца (*Bromus*) не влияла на поражение растений бурой ржавчиной (Ward, 1902) так же, как и в нашем исследовании. Н.И. Вавилов (1986) приводит несколько примеров, когда опушение повышало устойчивость, но это было получено на двудольных растениях. Исследователь обнаружил, что иммунитет персидской пшеницы (*T. persicum* Vav. = syn. *T. carthlicum* Nevski) к мучнистой росе и ржавчине не связан с опушением колоса, листьев и другими морфологическими признаками (Вавилов, 1962). Отсутствие взаимосвязи между опушением листа и восприимчивостью к бурой ржавчине, септориозу и мучнистой росе было обнаружено еще в ряде работ (Webster, 1977; Roberts et al., 1979).

В работе Т.С. Маркеловой (1983) выявлена положительная корреляционная зависимость между слабым опушением листьев у ряда сортов яровой пшеницы и интенсивностью их поражения бурой ржавчиной в сочетании с меньшим, по сравнению с восприимчивыми сортами, числом устьиц на единице площади листа, их замедленным раскрытием в утренние часы, а также фитонцидностью клеточного сока и инфекционных капель.

В исследованиях Л.Т. Бабаянца установлено, что на опушенном сорте мягкой яровой пшеницы Одесская 13 оседало в 2–3 раза больше телиоспор (летняя спора) стеблевой ржавчины, чем на неопушенных сортах (Бабаянц, 1970; Гешеле, Бабаянц, 1970). Это может способствовать повышенному поражению опушенных растений. В работе Н.П. Бехтольд и ее коллег (2020) изогенные линии сорта Саратовской 29 с редким коротким опушением и без него поражались слабее возбудителем мучнистой росы, чем сам опушенный сорт Саратовская 29 и ее изогенная линия, имеющие более плотное опушение листьев.

Аналогично в нашей работе обнаружено, что неопушенные растения меньше поражались мучнистой росой, причем различия между опушенными и неопушенными растениями зависели от степени поражения: чем выше средний уровень поражения в данных потомствах, тем меньше различия. Повидимому, влияние опушения листьев на степень поражения мучнистой росой и бурой ржавчиной в значительной мере зависит от внешних условий и общего инфекционного фона и в разные годы может проявляться по-разному или вообще не оказывать влияния. Причиной различий может быть большее количество спор, оседающих на опушенных пластинках листа, а также то, что с неопушенных растений споры легче смываются дождем и/или росой. В то же время известно, что сильно опушенные сорта пшеницы более устойчивы к поражению насекомыми (жуком-листоедом, шведской мухой) (Пшеница..., 1970), но это совсем другие признаки.

Расщепление по опушению листа соответствует дигенному соотношению для доминантного эпистаза 13:3 (см.

табл. 2). У диплоидной пшеницы *T. boeoticum* Boiss. признак наследуется моногенно (Sharma, Waines, 1994). При анализе наследования опушения листа у тетраплоидных пшениц (Цапайкин, Крупнов, 1988) расщепление в  $F_2$  соответствовало соотношениям 15:1 и 63:1, однако в одном варианте получено соотношение 149:24, что так же, как и в нашей работе, соответствует соотношению 13:3 ( $\chi^2 = 2.70$ ). Можно предположить, что у образца Хакасская признак определяется двумя неаллельными генами, взаимодействующими по принципу доминантного эпистаза: отсутствие опушения проявляется у рецессивных гомозигот по одному локусу, но только при наличии доминантного гена (в гомо- или гетерозиготном состоянии) в другом локусе.

У разных сортообразцов полиплоидных пшениц признак может определяться несколькими генами, локализованными, по данным разных авторов, в хромосомах 4A, 4B, 5A, 7B, 7D (Пшеница..., 1970; Майстренко, 1976; Гончаров, 2012; Дорошкова и др., 2014).

Таким образом, в исследованном нами материале на устойчивость/восприимчивость к грибным инфекциям влияют три фактора: а) расщепление по одному или двум главным генам, с доминантными аллелями устойчивости и рецессивными аллелями восприимчивости; б) два типа цитоплазмы популяции Хакасская, один из которых способствует устойчивости, другой восприимчивости растений  $F_1$ , вызывают различия в расщеплении потомств  $F_2$ ; в) опушение листа, увеличивающее степень поражения опушенных растений.

## Заключение

Устойчивость к мучнистой росе и бурой ржавчине у сорта Новосибирская 61 наследуется в большинстве случаев как доминантный признак. Некоторые гибриды этого сорта на цитоплазме Хакасской оказались восприимчивы к мучнистой росе и бурой ржавчине, а устойчивость наследовалась, скорее, как рецессивный признак. Это свидетельствует о неоднородности популяции Хакасская и о влиянии цитоплазматических детерминантов на проявление признака «устойчивость/восприимчивость». Признак «опушение листьев» от популяции Хакасская наследовался как дигенный, по типу доминантного эпистаза. Неопушенные растения в потомствах  $F_2$  менее поражены мучнистой росой, степень различий зависела от общего уровня поражения. Влияние опушения листа на устойчивость растений к бурой ржавчине статистически недостоверно. Тип наследования к двум болезням не совпадает, устойчивость может контролироваться одним или двумя доминантными генами, причем не только от устойчивого, но и от восприимчивого родителя. Возможно, это – результат комплементарного взаимодействия генов. Для изучения этого явления необходимы дополнительные исследования.

## Список литературы / References

- Бабаянц Л.Т. Природа полевой устойчивости пшениц к стеблевой ржавчине *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* Pers. и методы ее выявления в селекционной практике: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. Одесса, 1970.  
[Babayants L.T. The nature of the field resistance of wheat to stem rust *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* Pers. and methods of its detection in

- breeding practice: Synopsis of Cand. Agricul. Sci. Diss. Odessa, 1970. (in Russian)]
- Бехтольд Н.П., Орлова Е.А., Пшеничникова Т.А., Афонников Д.А., Зубаирова У.С. Изучение основных параметров устойчивости яровой пшеницы к мучнистой росе. В: Генофонд и селекция растений. V международная конференция. 11–13 ноября 2020 г. Доклады и сообщения. Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 2020;54-59. [Bechtold N.P., Orlova E.A., Pshenichnikova T.A., Afonnikov D.A., Zubairova U.S. Study of the main parameters of spring wheat resistance to powdery mildew. In: Gene pool and plant selection. V international conference. November 11–13, 2020. Reports and communications. Novosibirsk: ICG SB RAS, 2020;54-59. (in Russian)]
- Вавилов Н.И. Избранные труды. М.; Л.: Наука, 1962. Т. 3. [Vavilov N.I. Selected works. Moscow; Leningrad: Science, 1962. V. 3. (in Russian)]
- Вавилов Н.И. Иммуниет растений к инфекционным заболеваниям. М.: Наука, 1986. [Vavilov N.I. Immunity of plants to infectious diseases. Moscow: Science, 1986. (in Russian)]
- Генетика признаков продуктивности яровых пшениц в Западной Сибири: монография / В.А. Драгавцев, Р.А. Цильке, Б.Г. Рейтер, В.А. Воробьев, А.Г. Дубровская, Н.И. Коробейников, В.В. Новохатин, В.П. Максименко, А.Г. Бабакишиев, В.Г. Илющенко, Н.А. Калашник, Ю.П. Зуйков, А.М. Федотов. Отв. ред. Д.К. Беляев. Новосибирск: Наука, 1984. [Genetics of signs of productivity of spring wheat in Western Siberia / V.A. Dragavtsev, R.A. Tsilke, B.G. Reuters, V.A. Vorobiev, A.G. Dubrovskaya, N.I. Korobeynikov, V.V. Novokhatin, V.P. Maksimenko, A.G. Babakishiev, V.G. Ilyushchenko, N.A. Kalashnik, Y.P. Zuykov, A.M. Fedotov. Ed. D.K. Belyaev. Novosibirsk: Science, 1984. (in Russian)]
- Гешеле Э.Э., Бабаянц Л.Т. Анатомические особенности строения стебля пшеницы, ограничивающие развитие стеблевой ржавчины. С.-х. биология. 1970;5(3):373-376. [Geshele E.E., Babayants L.T. Anatomical features of the structure of the wheat stem, limiting the development of stem rust. *Agricultural Biol.* 1970;5(3):373-376. (in Russian)]
- Гончаров Н.П. Сравнительная генетика пшениц и их сородичей. Изд. 2-е, испр. и доп. Новосибирск: Академическое изд-во «Гео», 2012. [Goncharov N.P. Comparative genetics of wheat and their relatives. Edn. 2<sup>nd</sup>, rev. and add. Novosibirsk: Geo Academic Publishing House, 2012. (in Russian)]
- Дорошков А.В., Афонников Д.А., Пшеничникова Т.А. Генетический анализ опушения листа у изогенных линий мягкой пшеницы сорта Новосибирская 67. *Генетика*. 2014;50(2):172-180. DOI 10.7868/S0016675813120023. [Doroshkov A.V., Afonnikov D.A., Pshenichnikova T.A. Genetic analysis of leaf pubescence in isogenic lines of bread wheat Novosibirskaya 67. *Russ. J. Genet.* 2014;50(2):153-160. DOI 10.1134/S1022795413120028]
- Драгавцев В.А., Драгавцева Е.В. Механизмы сдвигов доминирования количественных признаков яровой пшеницы в разных географических точках. *Генетика*. 2011;47(5):691-696. [Dragavtsev V.A., Dragavtseva E.V. Mechanisms sustaining displacements of quantitative trait dominance in spring wheat of various geographical regions. *Russ. J. Genet.* 2011;47(5):691-696. DOI: 10.1134/S1022795411050036]
- Лебедева Т.В., Зуев Е.В. Наследование устойчивости к мучнистой росе у некоторых образцов яровой мягкой пшеницы из коллекции ВИР. *VAVILOVIA*. 2018;1(1):18-24. DOI 10.30901/2658-3860-2018-1-18-24. [Lebedeva T.V., Zuev E.V. Inheritance of resistance to powdery dew in some samples of spring soft wheat from the VIR collection. *VAVILOVIA*. 2018;1(1):18-24. DOI 10.30901/2658-3860-2018-1-18-24. (in Russian)]
- Майстренко О.И. Идентификация и локализация генов, контролирующих опушение листа молодых растений мягкой пшеницы. *Генетика*. 1976;12(5):5-15. [Maistrenko O.I. Identification and localization of genes controlling the pubescence of the leaf of young soft wheat plants. *Genetika*. 1976;12(5):5-15. (in Russian)]
- Маркелова Т.С. Изучение некоторых защитных особенностей у сортов яровой пшеницы против бурой ржавчины на первых этапах инфекционного процесса и наследование их при гибридизации: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1983. [Markelova T.S. Studying some protective features in varieties of spring wheat against brown rust at the first stages of the infectious process and inheriting them during hybridization: Synopsis of Cand. Agricul. Sci. Diss. Moscow, 1983. (in Russian)]
- Методы оценки и отбора исходного материала при создании сортов пшеницы устойчивых к бурой ржавчине: монография. Под ред. С.С. Санина. М.: ООО «РС дизайн», 2012. [Methods for evaluating and selecting the starting material when creating wheat varieties resistant to brown rust. Ed. S.S. Sanin. Moscow: LLC RS Design, 2012. (in Russian)]
- Персон К., Сидху Г. Генетика взаимоотношений в системе паразит-хозяин. В: Использование мутаций в селекции растений на устойчивость к болезням. Л.: ВИР, 1974;15-27. [Person K., Sidhu G. Genetics of relationships in the parasite-host system. In: Use of mutations in plant breeding for disease resistance. Leningrad: VIR Publishing House, 1974;15-27. (in Russian)]
- Пшеница и ее улучшение: монография; пер. с англ. Под ред. М.М. Якубцинера. М.: Колос, 1970. [Wheat and wheat improvement. Madison, Wisconsin, USA: Amer. Soc. Agronomy, 1967.]
- Рубин Б.А., Арциховская Е.В., Аксенова В.А. Биохимия и физиология иммунитета растений. М.: Высшая школа, 1975. [Rubin B.A., Artsikhovskaya E.V., Aksenova V.A. Biochemistry and physiology of plant immunity. Moscow: Higher School, 1975. (in Russian)]
- Синиговец М.Е. Перенесение устойчивости к ржавчине от пырея в пшеницу путем добавления и замещения хромосом. *Генетика*. 1976;12(9):13-20. [Sinigovets M.E. Transfer of rust resistance from couch grass to wheat by addition and substitution of chromosomes. *Genetika*. 1976;12(9):13-20. (in Russian)]
- Синиговец М.Е. Использование генетической информации пырея в селекции пшеницы. *Селекция и семеноводство*. 1987;3:8-10. Sinigovets M.E. Use of couch grass genetic information in wheat selection. *Breeding Seed Production*. 1987;3:8-10. (in Russian)]
- Цапайкин А.П., Крупнов В.А. Генетический контроль опушения листа у яровой твердой пшеницы. *Цитология и генетика*. 1988;22(2):32-36. [Tsapaikin A.P., Krupnov V.A. Genetic control of leaf desiccation in spring hard wheat. *Cytol. Gen.* 1988;22(2):32-36.]
- Шаманин В.П., Моргунов А.И., Манес Я., Зеленский Ю.И., Чурсин А.С., Левшунов М.А., Потоцкая И.В., Лихенко И.Е., Манько Т.А., Каракоз И.И., Табаченко А.В., Петуховский С.Л. Селекционно-генетическая оценка популяций яровой мягкой пшеницы сибирского питомника челночной селекции СИММИТ. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2012;16(1):21-32. [Shamanin V.P., Morgunov A.I., Manes J., Zelenskiy Y.I., Chursin A.S., Levshunov M.A., Pototskaya I.V., Likhenko I.E., Manko T.A., Karakoz I.I., Tabachenko A.V., Petukhovskiy S.L. Breeding and genetic estimation of spring bread wheat populations of the siberian shuttle breeding nursery of CIMMYT. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2012;16(1):21-32. (in Russian)]
- Mains E.B., Jackson H.S. Physiological specialization in the leaf rust of wheat, *Puccinia triticina* Erikss. *Phytopathol.* 1926;16:89-120.
- Peterson R.F., Champbell A.B., Hannah A.E. A diagrammatic scale for estimating rust intensity of leaves and stem of cereals. *Can. J. Res.* 1948;26(5):496-500.
- Roberts J.J., Gallun R.L., Patterson F.L., Foster J.E. Effects of wheat leaf pubescence on the Hessian fly. *J. Econom. Entomol.* 1979;72(2):211-214.
- Saari E.E., Prescott L.M. A scale for appraising the foliar intensity of wheat diseases. *Plant Dis. Rep.* 1975;59:377-380.
- Sharma H.C., Waines J.G. Inheritance of leaf pubescence in diploid wheat. *J. Heredity*. 1994;85(4):286-288.
- Ward M. On the relations between host and parasite in the Bromes their brown rust *Puccinia dispersa* Eriks. *Ann. Bot.* 1902;16(62):233-315.
- Webster J.A. The cereal leaf beetle in North America: breeding for resistance in small grains. *Ann. NY Acad. Sci.* 1977;287:230-237.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 14.06.2021. После доработки 19.07.2021. Принята к публикации 03.08.2021.

 pismavavilov.ru

DOI 10.18699/LettersVJ2021-7-16

Обзор

## Как в Институте цитологии и генетики СО АН СССР синтезировали ген $\beta$ -интерферона *IFNB1* человека

С.И. Ошевский 

**Аннотация:** В 1980-е гг. в лаборатории генной инженерии Института цитологии и генетики Сибирского отделения АН СССР (Новосибирск) синтезировали олигонуклеотиды и олигонуклеотидные производные и собрали из них один из четырех искусственных на тот момент крупнейших генов в мире – ген  $\beta$ -интерферона человека – и получили бактериальный продуцент  $\beta$ -интерферона на основе *Escherichia coli*. Этой знаковой работе исполняется 40 лет, и она занимает важное место в истории Института и в судьбе людей, ее выполнявших. Работой занимался коллектив авторов: В.П. Кумарев, М.И. Ривкин, Н.В. Амирханов, Л.В. Баранова, В.С. Богачев, М.Л. Кобец, С.И. Ошевский, Л.В. Обухова, В.Н. Рыбаков, К.Д. Кузнецов, С.И. Вершинина, В.В. Гулевич. Статья посвящена им и, прежде всего, лидерам, организаторам, инициаторам и основным исполнителям уникального исследования: Виктору Прокопьевичу Кумареву и Марку Иосифовичу Ривкину.

**Ключевые слова:** человек; ген *IFNB1*; продуцент.

**Благодарности:** Работа частично финансировалась по бюджетному проекту ИЦиГ СО РАН № 0259-2021-0014.

**Для цитирования:** Ошевский С.И. Как в Институте цитологии и генетики СО АН СССР синтезировали ген  $\beta$ -интерферона *IFNB1* человека. *Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;7(3):138-147. DOI 10.18699/LettersVJ2021-7-16

Review

## How the human *IFNB1* gene was synthesized at the ICG SB AS USSR

S.I. Oshevski 

**Abstract:** It is viewed as in the 1980s. in the newly created laboratory of genetic engineering of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Academy of Sciences of the USSR (Novosibirsk), oligonucleotides and oligonucleotide derivatives were synthesized and one of the four artificial at that time largest genes in the world - the human  $\beta$ -interferon gene was assembled and obtained a bacterial producer  $\beta$ -interferon based on *Escherichia coli*. This landmark work turns 40 and occupies an important place in the history of the Institute and in the fate of the people who performed it. The work was carried out by a group of authors: V.P. Kumarev, M.I. Rivkin, N.V. Amirkhanov, L.V. Baranova, V.S. Bogachev, M.L. Kobets, S.I. Oshevski, L.V. Obukhova, V.N. Rybakov, K.D. Kuznedelov, S.I. Vershinina, V.V. Gulevich. The article is dedicated to them and, above all, to the leaders, organizers, initiators, and main performers of the unique research: Viktor Prokopyevich Kumarev and Mark Iosifovich Rivkin.

**Key words:** human; *IFNB1* gene; producer.

**For citation:** Oshevski S.I. How the human *IFNB1* gene was synthesized at the IC&G SB AS USSR *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = *Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;7(2):138-147. DOI 10.18699/LettersVJ2021-7-16 (in Russian)

*Ничего не возникает из ничего.  
Парменид*

Все началось с того, что в 1970 г. гениальный Гобинд Корана (Har Gobind Khorana) с коллегами синтезировали химическим путем первый ген – аланиновой тРНК из дрожжей (Agarwal et al., 1970), затем – ген супрессорной тирозиновой тРНК и показали его работу в условиях *in vivo* (Ryan et al., 1979). В процессе работы были заложены фундаменталь-

ные основы развития физико-химической биологии и базис практически всего дальнейшего развития синтетической химии нуклеиновых кислот. Очень многие выдающиеся ученые вышли из его школы: K.L. Agarwal, M.J. Gait, M.H. Caruthers, M. Smith (Нобелевский лауреат 1993 года) и другие. С ними мы встречались и лично общались в дружеской об-

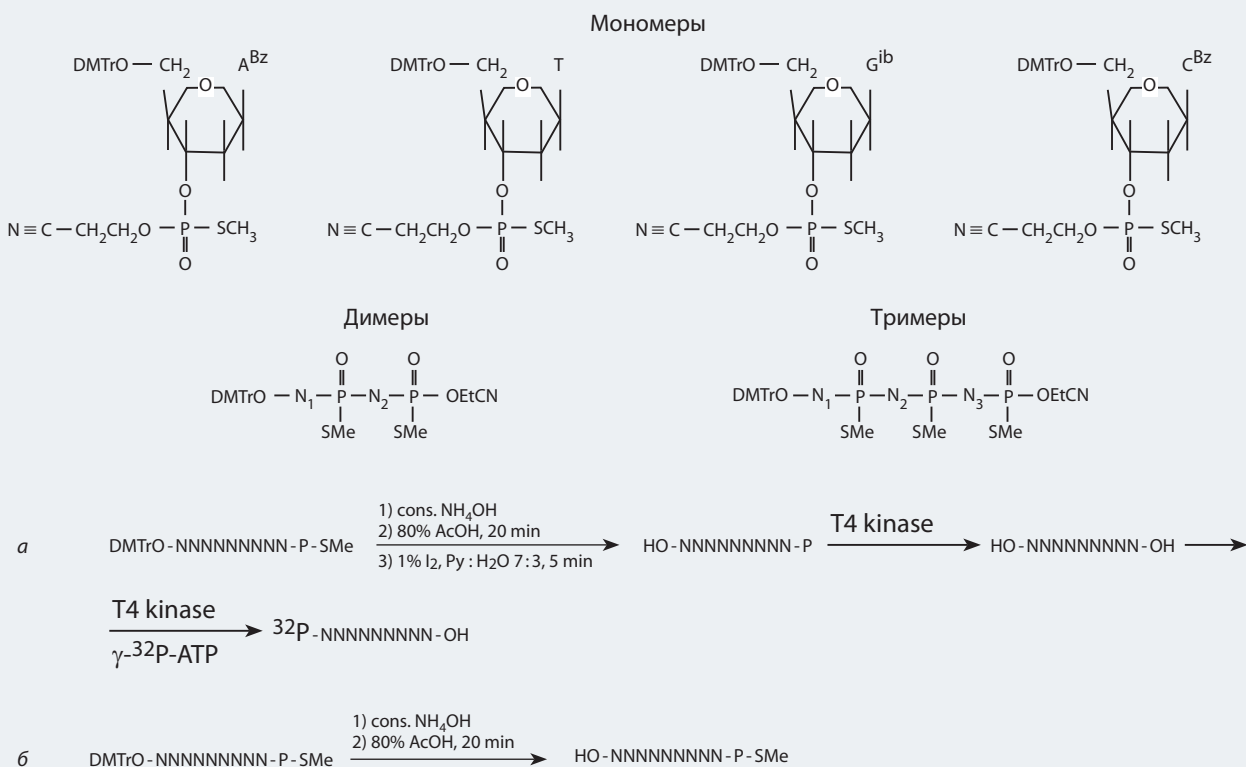


становке, например на 16-й конференции FEBS в Москве в 1984 г., на которой В.П. Кумарев и его сотрудники представили постерный доклад о синтезе и экспрессии гена *IFNB1*.

Прежде чем запланировать синтез и экспрессию гена *IFNB1* в группе В.П. Кумарева в ИЦиГ СО АН СССР был синтезирован и экспрессирован ген ангиотензина I (Kumarev et al., 1980). Этот успех, собственно, первой в Институте генно-инженерной работы и привел к идее открытия лаборатории генной инженерии. Директор Института академик АН СССР Д.К. Беляев поддержал и всесторонне помогал осуществлению задуманного. Он возлагал большие надежды на развитие методов синтеза генов и в честь создания лаборатории организовал банкет в малом зале Дома ученых. К тому времени только что была определена первичная структура гена *IFNB1* (Taniguchi et al., 1980a), и в этом же году он был экспрессирован в *Escherichia coli* (Taniguchi et al., 1980b). В начале 1980-х гг. и в предыдущие годы шло бурное развитие методов синтетической химии нуклеиновых кислот, в связи с чем и появилась идея синтезировать более протяженные гены путем их сборки из коротких блоков – олигодезоксирибонуклеотидов. Такой подход обещал ряд преимуществ, главное из которых – возможность оптимизации структуры гена для максимальной экспрессии в клетке-хозяине. Начальным обязательным условием было создание надежного, эффективного и максимально менее затрат-

ного на тот момент метода олигонуклеотидного синтеза в Институте. Такой триэфирный метод синтеза в своем варианте и разработал В.П. Кумарев. Для синтеза олигонуклеотидных блоков длиной от 12 до 30 нуклеотидных остатков были использованы специально разработанные мономеры, димеры и тримеры (рис. 1).

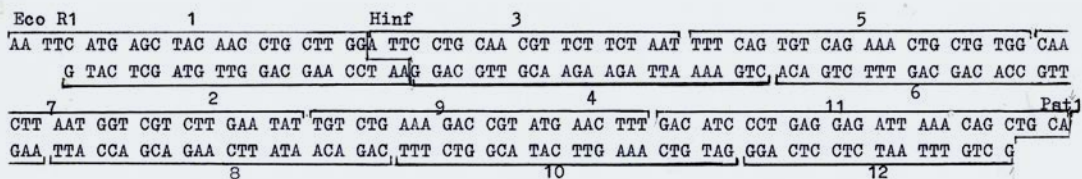
Блоки запланированы таким образом, чтобы перекрываться в основном по шести нуклеотидным, а иногда и более парам. Для защиты аминогрупп оснований в мономерах (см. рис. 1) использовали бензоильную группу для А и С и изобутирильную группу для G. 5'-ОН защищали диметокситригидрильной группой. Основное достижение этого варианта синтеза состоит в использовании В.П. Кумаревым вместе со стандартной β-цианэтильной группой тиометильной группы для защиты фосфатного остатка. Это привело к ряду преимуществ: группа обеспечила более высокий выход продуктов на стадии межнуклеотидной конденсации и за счет этого оказалось возможным синтезировать олигонуклеотиды длиной до 12 звеньев из тримеров, используя хроматографический метод очистки только на последнем этапе. Это дало существенную экономию сил, времени и материалов. Применение S-метильной защитной группы позволило в одном синтезе легко получать кроме олигонуклеотида с 3'-концевым фосфатом (см. рис. 1, а), который затем с помощью ферментативной реакции полинуклеотидкиназы фага



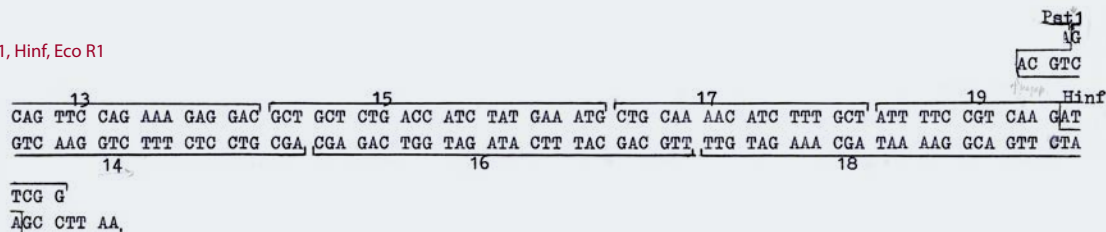
**Рис. 1.** Структуры мономеров, димеров и тримеров, специально разработанных и использованных для синтеза олигонуклеотидных блоков длиной от 12 до 30 нуклеотидных остатков.

Схемы получения: а – олигонуклеотид-5'-фосфата – строительного материала гена; б – вспомогательных олигонуклеотидных производных – штифтов, содержащих на 3'-конце остаток фосфата, защищенного S-метильной группой

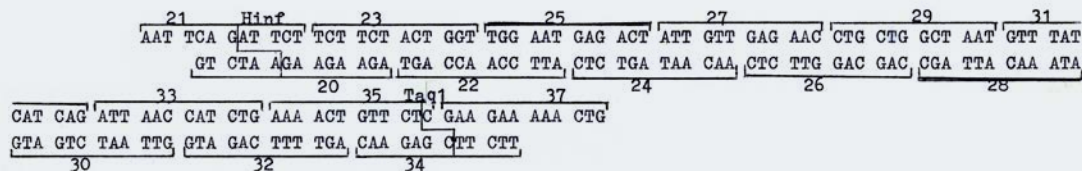
## Фрагмент 1: Eco R1, Hinf, Pst1



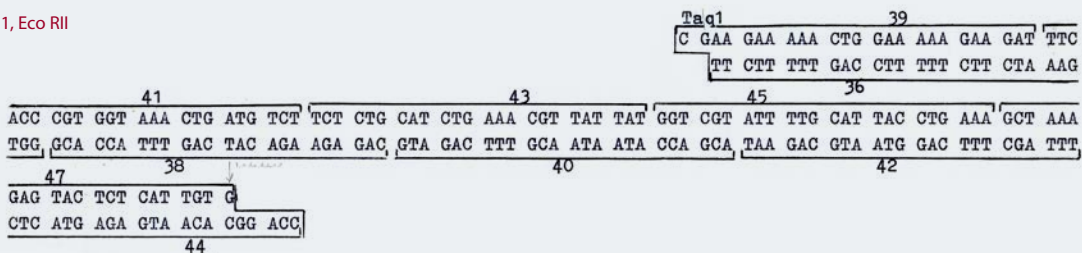
## Фрагмент 2: Pst1, Hinf, Eco R1



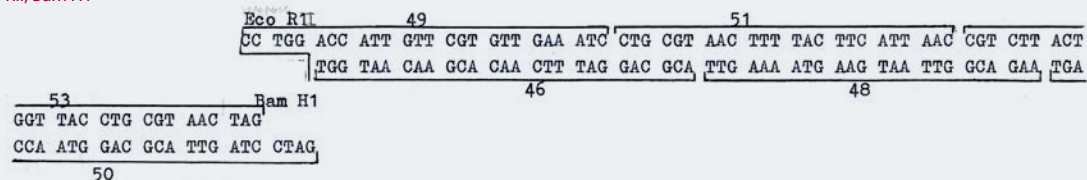
## Фрагмент 3: Eco R1, Hinf, Taq1



## Фрагмент 4: Taq1, Eco RII



## Фрагмент 5: Eco RII, Bam H1

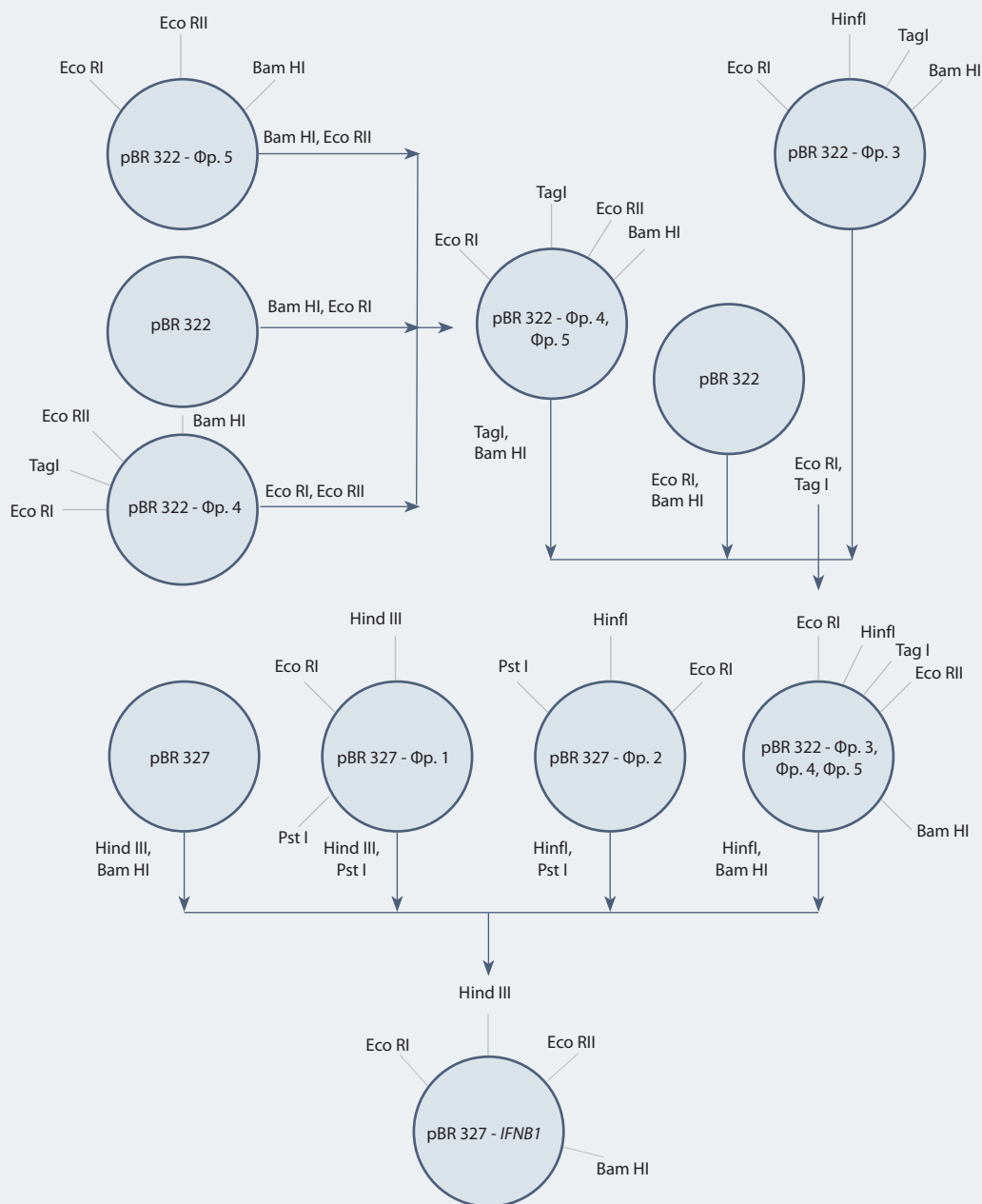
Рис. 2. Разбивка гена *IFNB1* на собираемые фрагменты 1–5.

Линиями и цифрами обозначены синтезированные олиго- и полинуклеотиды, из которых собирали каждый фрагмент. Показаны использованные сайты рестрикции. Приведен оригинальный рисунок периода конструирования гена, в обозначении сайтов есть арабские цифры, так как в то время номенклатура была неустоявшаяся.

T4 превращается в 5'-фосфат олигонуклеотида (на рис. 1 показан радиоактивный вариант), и другой важный компонент сборки гена – олигонуклеотид с 3'-концевым фосфатным остатком, защищенным тиометильной группой (см. рис. 1, б). Олигонуклеотидные производные были необходимы для того, чтобы в комплексе с ними лигировались (ферментативно сшивались) частично комплементарные им олигонуклеотиды с 5'-концевыми фосфатными остатками. Защищенный метильной группой 3'-тиофосфат препятствовал образованию побочных продуктов межолigonуклеотидного лигирования. Эти производные мы называли «штифтами».

Схемы сборки пяти фрагментов гена для их клонирования были различны. Для фрагментов 1, 2 и 4 сначала лигировали пары соседних олигонуклеотидов и затем, после их очистки электрофорезом, собирали из них лигированием с выделением электрофорезом фрагменты для клонирования в плаزمиды (рис. 2) pBR327, pBR327 и pBR322 соответственно.

Фрагмент 3 собирали из 12-мерных олигонуклеотидов: сначала из них лигировали три 36-звенных одноцепочечных полимера, потом их лигировали вместе на штифтах с добавлением еще одного олигонуклеотида и выделяли



**Рис. 3.** Схема сборки полного гена *IFNB1* (Кумарев и др., 1987а).

На первом этапе в плазмиде pBR 322 путем последовательной сшивки соединяли фрагмент 5 и фрагмент 4, затем к нему добавляли фрагмент 3. На следующем этапе к фрагменту 3-4-5 присоединяли фрагменты 2 и 1. Все это в плазмиде pBR 327

одноцепочечный 122-мерный полимер. После синтеза второй цепи фрагмента ДНК-полимеразой I его обрабатывали рестриктазами Eco RI и Tag I (см. рис. 2) для дальнейшего клонирования в плазмиде pBR322. Используя такой метод сборки, мы существенно сократили объем олигонуклеотидного синтеза. Фрагмент 5 собирали из 24–27-звенных полинуклеотидов: отдельно лигировали двухцепочечный фрагмент из четырех полинуклеотидов, затем к нему в отдельных реакциях пришивали еще по одному недостающему полинуклеотиду в верхней и нижней цепи слева и

справа, выделяли денатурирующим электрофорезом цепи фрагмента и отжигали их для получения двуцепочечного фрагмента перед встройкой в специально подготовленную плазмиду. Схема промежуточных клонирований всех пяти фрагментов с проверкой их структур, наработкой плазмид, вырезания и аккуратной сборки всего гена *IFNB1* в плазмиде (рис. 3) с уже ее наработкой, проверкой структуры вставки и последующего переклонирования в плазмиду pSK lac95-1 (плазмида разработана нашими замечательными коллегами из ВНИИМБ Олегом Серпинским и Владимиром

M S Y N L L G F L Q R S S N F  
 CACTACAGCTCTTTCCATGAGCTACAACCTTGCCTGGATTCCCTACAAAGAAGCAGCAATTT  
 CACTACAGCTCTTTCCATGAGCTACAACcTGCTGGATTCCCTgCAAcgttcttcttAATTT  
 TACTCGATGTTGGACGAACCTAAGGACGTTGCAAGAAGATTAAG

Q C Q K L L W Q L N G R L E Y C L K D R  
 TCAGTGTGAGAACTCCTGTGGCAATTGAATGGGAGGCTTGAATACTGCCTCAAGGACAG  
 TCAGTGTGAGAACTgCTGTGGCAAcTtAATGGtcGtCTTGAATAtTgTCTgAAAGACcG  
 AGTCACAGTCTTTGACGACACCGTTGAATTACCAGCAGAACTTATAACAGACTTCTGGC

M N F D I P E E I K Q L Q Q F Q K E D A  
 GATGAACCTTTGACATCCCTGAGGAGATTAAAGCAGCTGCAGCAGTTCCAGAAAGGAGACGC  
 tATGAACCTTTGACATCCCTGAGGAGATTAAaCAGCTGCAGCAGTTCCAGAAaGAGGACGC  
 ATACTTGAACCTGTAGGACTCCTCTAATTTGTGACGCTCGTCAAGGTCTTTCTCTGGC

A L T I Y E M L Q N I F A I F R Q D S S  
 CGCATTGACCATCTATGAGATGCTCCAGAACATCTTTGCTATTTTCAGACAAGATTCAATC  
 tGctcTGACCATCTATGAaATGCTgCAaAACATCTTTGCTATTTTCcGtCAAGATTCTtC  
 ACGAGACTGGTAGATACTTTACGACGTTTGTAGAAACGATAAAAGGCAGTTCTAAGAAG

S T G W N E T I V E N L L A N V Y H Q I  
 TAGCACTGGCTGGAATGAGACTATTGTTGAGAACTCCTGGCTAAATGTCTATCATCAGAT  
 TtctACTGGtTGGAATGAGACTATTGTTGAGAACTgCTGGCTAAATGTtTATCATCAGAT  
 AAGATGACCAACCTTACTCTGATAACAACCTCTGGACGACCGATTACAATAGTAGTCTA

N H L K T V L E E K L E K E D F T R G K  
 AAACCATCTGAAGACAGTCTCTGGAAGAAAACTGGAGAAAAGAGATTTACCCAGGGAAA  
 tAAACCATCTGAaaACTGTtCTcGAAGAAAACTGGaaAAAAGAGATTTACCCcGtGGtAA  
 ATTGGTAGACTTTTGACAAGAGCTTCTTTTGGACCTTTTCTCTAAAGTGGGCACCATT

L M S S L H L K R Y Y G R I L H Y L K A  
 ACTCATGAGCAGTCTGCACCTGAAAAGATATTATGGGAGGATTCTGCATTACCTGAAGGC  
 ACTgATGtcttctCTGCAcCTGAAAcGtTATTATGGtcGtATTCTGCATTACCTGAAAcG  
 TGACTACAGAAGAGACGTAGACTTTGCAATAATACCAGCATAAGACGTAATGGACTTTTCG

K E Y S H C A W T I V R V E I L R N F Y  
 tAAGGAGTACAGTCACTGTGCCTGGACCATAGTCAGAGTGGAAATCCTAAGGAACTTTTA  
 tAAaGAGTAcTcTcATtGTGCCTGGACCATtGtTcGtGtGAAATCCTgCgTAACTTTTA  
 ATTTCTCATGAGAGTAACACGGACCTGGTAACAAGCAACAATTTAGGACGCATTGAAAAT

F I N R L T G Y L R N  
 CTTTCATTAACAGACTTACAGGTTACCTCCGAAACTGA  
 CTTTCATTAACcGtCTTACTGGTTACCTgCGtAACTAg  
 GAAGTAATTTGGCAGAATGACCAATGGACGCATTGATC

**Рис. 4.** Последовательности β-интерферона человека и его генов: исходного и синтетического.

1-я сверху – последовательность β-интерферона человека;

2-я сверху – исходная последовательность гена *IFNB1* человека; в ней оранжевым цветом выделены замененные нуклеотиды и старт-кодон;

3-я сверху – перекодированная нами последовательность гена *IFNB1* человека; в ней строчными буквами показаны нуклеотиды, на которые заменяли исходные нуклеотиды природного гена.

Нижняя цепь – комплементарная перекодированной нами последовательности гена *IFNB1* (выделена красным)

Кравченко и содержала промотор *lac UV5*, *lac*-оператор и *SD*-сайт), то есть постановкой гена *IFB1* под управление промотора, индуцируемого ИПТГ в *E. coli*, весьма комплексна и является безусловным достижением высокой мысли М.И. Ривкина. Она заслуживает особого внимания и, возможно, будет рассмотрена отдельно.

При этом следует учесть, что существовал еще один важнейший и, безусловно, определяющий весь результат работы этап – это перекодирование исходной последовательности гена (рис. 4), с одной стороны, в коды *E. coli*, с другой стороны, с целью уменьшить проблемы олигонуклеотидного синтеза, при этом не оставив без внимания рестриционные сайты внутри гена, убрав ненужные. Важно было учитывать вторичную структуру синтезируемых олиго- и полинуклеотидов и одноцепочечных участков собираемых фрагментов и потенциальных паразитных межолго- и межполинуклеотидных комплексов.

Проблемы олигонуклеотидного синтеза следующие (они существовали тогда и продолжают иметь место в настоящее время): проблема синтеза олигонуклеотидов, содержащих несколько остатков гуанина друг за другом, в более общем виде – несколько остатков пуриновых нуклеотидов. В.П. Кумарев с коллегами-синтетиками синтезировали олиго- и полинуклеотиды триэфирным методом из тримеров и димеров, их требуется заранее нарабатывать в большом количестве, поэтому чем меньше их – тем рациональнее подход. До некоторой степени при перекодировке гена приходилось рационально подбирать триплеты, по возможности максимально учитывая другие факторы. Более значимым фактором была частота встречаемости кодонов в *E. coli*.

В таблице собраны все использованные замены триплетов. Видно, что у 57 аминокислот были заменены кодоны с явно выраженной тенденцией в 46 случаях к переходу к кодонам с более высо-

Замены триплетов, последовательно произведенные в исходном гене *IFNB1*

AA с измененными кодонами, по порядку	Замена триплета, частота встречаемости триплетов в <i>E. coli</i>	Количество раз замены других триплетов на данный триплет в гене	Особые отметки
1. L	TTG → CTG 12.9 → 45.8	CTG – 9 раз из 24 АК в гене	
2. L	CTA → CTG 4.5 → 45.8		
3. R	AGA → CGT 4.5 → 18.8	CGT – 11 раз из 11 АК в гене	Для синтеза, предпочтение к пиримидинам
4. S	AGC → TCT 15.0 → 11.0	TCT – 7 раз из 9 АК в гене	То же
5. S	AGC → TCT 15.0 → 11.0		
6. K	AAG → AAA 13.1 → 35.6	AAA – 7 раз из 11 АК в гене	
7. L	CTC → CTG 10.1 → 45.8		
8. L	TTG → CTT 12.9 → 12.6		Предпочтение к пиримидинам
9. G	GGG → GGT 11.6 → 24.9	GGT – 4 раза из 6 АК в гене	
10. R	AGG → CGT 2.6 → 18.8		
11. Y	TAC → TAT 12.0 → 18.4	TAT – 1 раз из 10 АК в гене	
12. C	TGC → TGT 6.0 → 5.4	TGT – 1 раз из 3 АК в гене	
13. L	CTC → CTG 10.1 → 45.8		
14. K	AAG → AAA 13.1 → 35.6		
15. R	AGG → CGT 2.6 → 18.8		
16. K	AAG → AAA 13.1 → 35.6		
17. K	AAG → AAA 13.1 → 35.6		
18. A	GCC → GCT 23.8 → 17.4	GCT – 2 раза из 6 АК в гене	Для синтеза
19. A	GCA → GCT 21.6 → 17.4		То же
20. E	GAG → GAA 18.8 → 37.9	GAA – 2 раза из 13 АК в гене	
21. L	CTC → CTG 10.1 → 45.8		
22. Q	CAG → CAA 28.0 → 14.4	CAA – 1 раза из 11 АК в гене	Для синтеза
23. R	AGA → CGT 4.5 → 18.8		
24. S	TCA → TCT 10.0 → 11.0		Предпочтение к пиримидинам
25. S	AGC → TCT 15.0 → 11.0		Для синтеза, предпочтение к пиримидинам
26. G	GGC → GGT 25.5 → 24.9		Для синтеза
27. L	CTC → CTG 10.1 → 45.8		
28. V	GTC → GTT 14.0 → 20.1	GTT – 2 раза из 5 АК в гене	

## Окончание таблицы

29. I	ATA → ATT 8.3 → 29.7	ATT – 2 раза из 11 АК в гене	
30. K	AAG → AAA 13.1 → 35.6		
31. T	ACA → ACT 10.8 → 11.0	ACT – 2 раза из 7 АК в гене	Для синтеза, предпочтение к пиримидинам
32. V	GTC → GTT 14.0 → 20.1		
33. L	CTG → CTC 45.8 → 10.1		
34. E	GAG → GAA 18.8 → 37.9		
35. R	AGG → CGT 2.6 → 18.8		
36. G	GGA → GGT 10.7 → 24.9		
37. L	CTC → CTG 10.1 → 45.8		
38. S	AGC → TCT 15.0 → 11.0		Для синтеза, предпочтение к пиримидинам
39. S	AGT → TCT 10.8 → 11.0		То же
40. H	CAC → CAT 8.8 → 12.5	CAT – 2 раза из 5 АК в гене	
41. R	AGA → CGT 4.5 → 18.8		
42. G	GGG → GGT 11.6 → 24.9		
43. R	AGG → CGT 2.6 → 18.8		
44. K	AAG → AAA 13.1 → 35.6		
45. K	AAG → AAA 13.1 → 35.6		
46. S	AGT → TCT 10.8 → 11.0		
47. H	CAC → CAT 8.8 → 12.5		
48. I	ATA → ATT 8.3 → 29.7		
49. V	GTC → GTT 14.0 → 20.1		
50. R	AGA → CGT 4.5 → 18.8		
51. V	GTG → GTT 23.4 → 20.1		Для синтеза, предпочтение к пиримидинам
52. L	CTA → CTG 4.5 → 45.8		
53. R	AGG → CGT 2.6 → 18.8		
54. R	AGA → CGT 4.5 → 18.8		
55. T	ACA → ACT 10.8 → 11.0		
56. L	CTC → CTG 10.1 → 45.8		
57. R	CGA → CGT 4.1 → 18.8		
58. Ter	TGA → TAG opal → amber		

кой встречаемостью в бактерии, а также один стоп-кодон. Все аргининовые кодоны AGG, AGA и CGA во всем гене заменены на CGT. Явно для упрощения синтеза, так как в них преобладают пурины. Это делал В.П. Кумарев, при пожеланиях М.И. Ривкина о сайтах рестрикции: в структуру гена введены сайты Eco R1, Bam H1 и Tag1 (см. рис. 2), три сайта Eco RII из четырех были убраны с сохранением четвертого в качестве полезного уникального сайта. Каждый фрагмент гена собирал кто-то один из сотрудников от начала (рассмотрения паразитарных структур) и до проверки секвенированием отклонированного фрагмента. Сначала С.И. Ошевский с М.И. Ривкиным попробовали собрать сразу весь ген. Возможно, это и получилось бы, если бы тогда существовал метод ПЦР, который бы помог выявить и размножить нужную последовательность из смеси лигирования гена. Но, в отсутствие метода ПЦР, мы пошли путем последовательной сборки гена. С.И. Ошевский собирал первый фрагмент – № 5. После успешной сборки и проверки правильности сборки секвенированием после клонирования фрагмента оказалось, что один из четырех выбранных клонов содержал правильную вставку. Гораздо позже выяснилось, что в одном из олигонуклеотидов нижней цепи фрагмента были неправильно синтезированы два нуклеотида. Это была единственная ошибка во всей синтетической работе по гену. После удачного клонирования фрагмента 5 начали параллельную сборку остальных фрагментов гена. Один собирала Л.В. Обухова, два собрали вместе М.Л. Кобец и М.И. Ривкин, еще один собрал В.Н. Рыбаков. При том что вся работа длилась не один год и была форсирована, ошибок авторы практически не допускали. Важнейшей проверкой всех усилий стало, конечно, определение активности *IFNB1* в продуценте. Гибридной плазмидой, содержащей ген *IFNB1* с промотором, трансформировали *E. coli* JM 103. После подращивания клеток и индукции ИПТГ клетки разрушали. Активность белка *IFNB1* определяли в супернатанте и сравнивали с данными литературы, в которых природный ген *IFNB1* экспрессировали под управлением того же промотора. Оказалось, что активность интерферона в ед./л среды у нас составляет  $5 \times 10^5 - 10^6$  (Kumarev et al., 1986; Кумарев и др., 1987б), что в 5–10 раз выше, чем у продукта, наработанного с использованием природного гена (Taniguchi et al., 1980b).

Следует отметить, что, как и лейкоцитарный интерферон, *IFNB1* является гликозилированным белком, поэтому генно-инженерные продуценты все-таки имеют меньшую эффективность и меньший спектр активности. Часто это компенсируется количеством препарата.

Выполнение всей этой сложной и многопрофильной пионерской работы по синтезу гена  $\beta$ -интерферона человека и его экспрессии – очевидное достижение нашего Института. Наш продуцент с искусственным геном, при сделанных заменах в структуре, как и планировалось, оказался эффективнее продуцента с природным геном. Работа выполнена на заре генной инженерии в стране и мире и была опубликована в «Докладах академии наук СССР» (Kumarev et al., 1986).

Авторские свидетельства написаны М.И. Ривкиным и С.И. Ошевским. Статья в «Докладах академии наук СССР» – М.И. Ривкиным. Авторы работы расположены следующим образом: сначала В.П. Кумарев с М.И. Ривкиным, затем химики-синтетики, затем сотрудники, собиравшие ген, и С.И. Вершинина с В.В. Гулевичем. На этом настоял В.П. Кумарев.

В работе также принимали участие: академик АН СССР Д.К. Беляев – внимательно следил и помогал, В.М. Меркулов – ранее создавал и поддерживал микробиологическую базу лаборатории, ассистировали лаборанты: Т.И. Грашкевич, Т. Смирнова и В.Н. Стрига, которые трудились очень ответственно.

Практически одновременно с нами искусственный ген лейкоцитарного интерферона был синтезирован и собран совместно (по половине гена) в лаборатории Всесоюзного научно-исследовательского института молекулярной биологии (р.п. Кольцово, Новосибирская область) и лаборатории академика М.Н. Колосова в Институте биоорганической химии (Москва), и тоже успешно (Колосов и др., 1984).

Автор признателен за помощь и поддержку академику РАН Н.П. Гончарову, в.н.с. А.Г. Блинову и профессору И.К. Захарову. Спасибо профессорам И.К. Захарову и Т.И. Меркуловой, академику НАН РК Р.И. Берсимбаеву и Е.В. Кумаревой за предоставленные фотографии.

### Список литературы / References

- Колосов М.Н., Коробко В.Г., Добрынин В.Н., Северцова И.В., Чупило С.А., Быстров Н.С., Берлин Ю.А., Каюшин А.Л., Буткус В.В., Полякова И.А., Болдырева Е.Ф., Сандахчиев Л.С., Попов С.Г., Шубина Т.Н., Кравченко В.В., Серпинский О.И., Ямщиков В.Ф., Беликов С.И., Синяков А.Н., Сиволобова Г.Ф. и др. Способ получения искусственного гена интерферона  $\alpha 2$  человека и способ получения полипептида с активностью интерферона микробиологическим синтезом. Авторское свидетельство SU 1092176 А1, 15.05.1984. Заявка № 3493457 от 24.09.1982.
- Кумарев В.П., Ривкин М.И., Амирханов Н.В., Баранова Л.В., Богачев В.С., Кобец М.Л., Ошевский С.И., Обухова Л.В., Рыбаков В.Н., Кузнецов К.Д., Вершинина С.И., Гулевич В.В. Способ получения искусственного гена  $\beta$ -интерферона человека. Авторское свидетельство SU 1362016, 22.09.1987а. Заявка № 3947071 от 15.09.1985.
- Кумарев В.П., Ривкин М.И., Амирханов Н.В., Баранова Л.В., Богачев В.С., Кобец М.Л., Ошевский С.И., Обухова Л.В., Рыбаков В.Н., Кузнецов К.Д., Вершинина С.И., Гулевич В.В. Способ получения полипептида с активностью  $\beta$ -интерферона. Авторское свидетельство SU 1362017, 22.09.1987б. Заявка № 3947071 от 15.09.1985.
- Agarwal K.L., Büchi H., Caruthers M.H., Gupta N., Khorana H.G., Kleppe K., Kumar A., Ohtsuka E., Rajbhandary U.L., Van de Sande J.H., Sgaramella V., Weber H., Yamada T. Total synthesis of the gene for an alanine transfer ribonucleic acid from yeast. *Nature*. 1970;227(5253):27-34. DOI 10.1038/227027a0.
- Goeddel D.V., Shepard H.M., Yelverton E., Leung D., Crea R., Sloma A., Pestka S. Synthesis of human fibroblast interferon by *E. coli*. *Nucleic Acids Res*. 1980;8(18):4057-4074. DOI 10.1093/nar/8.18.4057.
- Kumarev V.P., Rivkin M.I., Bogachev V.S., Baranova L.V., Merkulov V.M., Rybakov V.N. Molecular cloning of synthetic angiotensin I gene in *Escherichia coli*. A route to physiologically active hormone. *FEBS Letters*. 1980;114:273-277.
- Kumarev V.P., Rivkin M.I., Amirkhanov N.V., Baranova L.V., Bogachev V.S., Kobets M.L., Oshevsky S.I., Obukhova L.V., Rybakov V.N., Kuznedelov K.D., Verшинina S.I., Gulevich V.V. Chemico-enzymatic synthesis and cloning of a biologically-active human  $\beta$ -interferon gene. *Doklady Biochemistry*. 1986;290(1-6):244-249.
- Ryan M.J., Belagaje R., Brown E.L., Fritz H.J., Khorana H.G. A synthetic tyrosine suppressor tRNA gene with an altered promoter sequence. Its cloning and relative expression *in vivo*. *J. Biol. Chem*. 1979;254(21):10803-10810. DOI 10.1016/S0021-9258(19)86593-6.
- Taniguchi T., Ohno S., Fujii-Kuriyama Y., Muramatsu M. The nucleotide sequence of human fibroblast interferon cDNA. *Gene*. 1980a;10(1):11-15. DOI 10.1016/0378-1119(80)90138-9.
- Taniguchi T., Guarente L., Roberts T. M., Kimelman D., Douhan 3<sup>rd</sup> J., Ptashne M. Expression of the human fibroblast interferon gene in *Escherichia coli*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1980b;77(9):5230-5233. DOI 10.1073/pnas.77.9.5230.

## Приложение 1

## Краткие биографии руководителей работы и ее основных исполнителей

**Виктор Прокопьевич Кумарев** (1937–2012) – родился в селе Грязнуша Тамбовской области. (Как когда-то сказал ему директор Института цитологии и генетики СО АН СССР Д.К. Беляев: «Мы с тобой тамбовские волки».) Окончил Ленинградский технологический институт им. Ленсовета, вечернее отделение по кафедре красителей. Его учителем был профессор, доктор химических наук Лев Соломонович Эфрос (1915–2013) – один из создателей лекарственного препарата дибазол<sup>1</sup>. Важно, что во время учебы в институте В.П. работал аппаратчиком на химическом заводе, что сделало его особенно внимательным к условиям химических реакций. Виктор Прокопьевич работал в Иркутском институте органической химии, учился в аспирантуре в отделе биохимии Новосибирского института органической химии (НИОХ) СО АН СССР и защитил в 1972 г. кандидатскую диссертацию по «химии» под руководством профессора Д.Г. Кнорре. Затем руководил группой в Научно-исследовательском конструкторско-технологическом институте биологически активных веществ (НИКТИ БАВ) (р.п. Кольцово, Новосибирская область), с 1976 г. возглавлял группу в ИЦиГ СО АН СССР (Новосибирск) и с 1980 по 1987 г. лабораторию генной инженерии этого же института, возглавлял лабораторию в Институте лимнологии СО АН СССР (Иркутск) с 1987 по 1991 г. и был сотрудником фирмы GeneSet (Париж, Франция) с 1991 по 2002 г. Виктор Прокопьевич не читал научную литературу ни по-английски, ни по-немецки, ни по-французки. Зато хорошо читал формулы. Он фактически освоил и развил химию нуклеиновых кислот за счет своего экспериментального опыта, базируясь на уме и исключительном трудолюбии. Он не писал статьи: ему было некогда, он торопился исследовать новое.

**Марк Иосифович Ривкин** (1946–1999) – в 1969 г. окончил НГУ по специальности «биохимия», с 1969 по 1973 г. учился в аспирантуре в НИОХ СО РАН в отделе биохимии под руководством профессора Д.Г. Кнорре (непосредственный руководитель – зам. зав. отделом кандидат химических наук М.А. Грачев). Работал в НИКТИ БАВ, с 1976 г. работал в группе В.П. Кумарева, а затем – в лаборатории генной инженерии до 1987 г. Далее возглавлял группу в лаборатории молекулярной генетики растений и с 1991 г. – сектор генетической инженерии растений. С 1993 г. в США (Университет штата Северная Дакота, Фарго и в Нью Йорке). М.И. изучал

и анализировал английскую литературу. Как и В.П. Кумарев, он был стратегом, очень внимательно все исследовал и аккуратно накапливал свой и чужой экспериментальный опыт. Диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук под руководством М.А. Грачева защитил в 1976 г. Диссертацию на соискание ученой степени доктора биологических наук защитил в 1994 г. в ИЦиГ СО РАН.

**Людмила Васильевна Баранова** (1947–2016) – жена В.П. Кумарева, окончила НГУ по специальности «химия» и работала с В.П. начиная с лаборатории генной инженерии до 2002 г., всегда активно отстаивая интересы Виктора Прокопьевича.

**Людмила Васильевна Обухова** (1944–2020) – окончила НГУ по специальности «химия», диплом делала под руководством М.А. Грачева, работала в НИОХ СО АН СССР, отдел биохимии, в НИКТИ БАВ, пришла в лабораторию генной инженерии ИЦиГ в 1980 г., работала до 1987 г., затем – в лаборатории молекулярной генетики растений до 1996 г. и в группе физико-химической биологии до 2010 г. С 2010 до 2020 г. в лаборатории генной инженерии ИЦиГ СО РАН.

**Марина Львовна Кобец** – родилась в 1943 г., пришла в лабораторию генной инженерии ИЦиГ в 1980 г., кандидат биологических наук, с 1987 по 1991 г. работала в группе М.И. Ривкина в лаборатории молекулярной генетики растений и с 1991 г. – в секторе генетической инженерии растений. С 1993 по 2010 г. работала в секторе генной инженерии и в лаборатории генной инженерии.

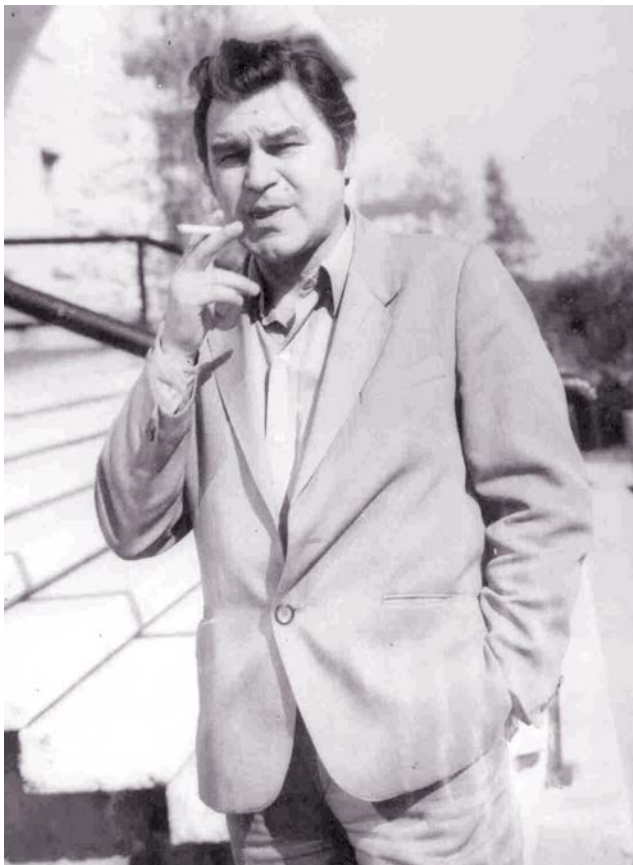
**Нариман Валерманович Амирханов** – окончил НГУ по специальности «химия», пришел в группу и лабораторию генной инженерии ИЦиГ в 1980 г. и работал до 1984 г., с 1984 по 1987 г. учился в аспирантуре НИБХ СО РАН и там же защитил диссертацию в 1989 г., затем работал с 1999 г. 4 года в Швеции и 5 лет в США, с 2008 г. по настоящее время – в ИХБФМ СО РАН.

**Виктор Семенович Богачев** – окончил НГУ по специальности «химия» – самый первый сотрудник В.П. Кумарева начиная с НИКТИ БАВ, кандидат химических наук, работал в группе и лаборатории ИЦиГ до 1985 г., затем в группе молекулярных основ генетики животных до 1992 г.

<sup>1</sup> URL: <http://interactive.science.spb.ru/articles/2016/ginzburg/dibazol.html>

(Дата обращения: 27 июня 2021 г.)





Виктор Прокопьевич Кумарев



Марк Иосифович Ривкин

**Сергей Иванович Ошевский** – окончил НГУ по специальности «биохимия» и аспирантуру в НИОХ СО АН СССР в отделе биохимии под руководством Д.Г. Кнорре и М.А. Грачева, пришел в группу и лабораторию генной инженерии в 1980 г., в 1985 г. защитил кандидатскую диссертацию по «химии», работал до 1987 г., затем – в лаборатории молекулярной генетики растений ИЦиГ до 1996 г. и руководил группой физико-химической биологии до 2010 г. В 1994–1995 гг. стажировался в INSERM (Unite 268, Paris, France). В 1996 г. – associate professor INSERM (Unite 268, Paris, France). С 2010 г. в лаборатории теоретической генетики, лаборатории молекулярных основ генетики животных и с 2012 г. в лаборатории молекулярной генетики человека ИЦиГ СО РАН.

**Владимир Николаевич Рыбаков** – окончил НГУ по специальности «химия» и с 1978 до 1987 г. работал в группе и лаборатории генной инженерии ИЦиГ.

**Константин Дмитриевич Кузнецов** – окончил НГУ по специальности «биология», делал дипломную работу и работал в лаборатории генной инженерии ИЦиГ с 1984 по 1987 г., затем в в Институте лимнологии (Иркутск) до 1994 г. и в США, в Waksman Institute of Microbiology.

**Светлана Ивановна Вершинина** – окончила НГУ по специальности «химия», пришла в 1972 г. в НИКТИ БАВ (Новосибирск), с 1977 г. – в группе В.П. Кумарева, а затем в лаборатории генной инженерии до 1987 г. Далее работала в ИЦиГ до 2019 г. в различных лабораториях.

**Виктор Васильевич Гулевич** – окончил НГУ по специальности «химия», в 1980–1987 гг. работал в лаборатории генной инженерии. Затем в лаборатории молекулярной генетики растений ИЦиГ до 1996 г. и в группе физико-химической биологии до 2010 г. В настоящее время – переводчик в ИЦиГ СО РАН.

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 24.06.2021. После рецензирования 20.07.2021. Принята к публикации 21.07.2021.

 pismavavilov.ru

DOI 10.18699/LettersVJ2021-7-17

Обзор

## Владимир Александрович Тюнин и селекция пшеницы на Южном Урале: памяти селекционера

 И.Ю. Кушниренко<sup>1</sup>, В.П. Шаманин<sup>2</sup>, Е.Р. Шрейдер<sup>1</sup>, Н.П. Гончаров<sup>3</sup>, Е.А. Салина<sup>3</sup>, В.И. Цыганков<sup>4</sup>,  
 Е.В. Зуев<sup>5</sup>, А.И. Моргунов<sup>6</sup>

**Для цитирования:** Кушниренко И.Ю., Шаманин В.П., Шрейдер Е.Р., Гончаров Н.П., Салина Е.А., Цыганков В.И., Зуев Е.В., Моргунов А.И. Владимир Александрович Тюнин и селекция пшеницы на Южном Урале: памяти селекционера. *Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;7(3):148-157. DOI 10.18699/LettersVJ2021-7-17

Review

## Vladimir A. Tyunin and wheat breeding in the Southern Urals: In memory of plant breeder

 I.Yu. Kushnirenko<sup>1</sup>, V.P. Shamanin<sup>2</sup>, E.R. Schreider<sup>1</sup>, N.P. Goncharov<sup>3</sup>, E.A. Salina<sup>3</sup>, V.I. Tsygankov<sup>4</sup>,  
 E.V. Zuev<sup>5</sup>, A.I. Morgounov<sup>6</sup>

**For citation:** Kushnirenko I.Yu., Shamanin V.P., Schreider E.R., Goncharov N.P., Salina E.A., Tsygankov V.I., Zuev E.V., Morgounov A.I. Vladimir A. Tyunin and wheat breeding in the Southern Urals: In memory of plant breeder. *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;7(3):148-157. DOI 10.18699/LettersVJ2021-7-17 (in Russian)

11 февраля 2021 г. скоропостижно скончался известный селекционер яровой мягкой пшеницы, заслуженный агроном РФ, доктор сельскохозяйственных наук Владимир Александрович Тюнин.

Владимир Александрович родился 9 марта 1946 г. в г. Чермоз Пермской области в семье сельских тружеников. В 1967 г. с отличием окончил Курганский сельскохозяйственный институт (ныне ФГБОУ ВО «Курганская государ-

ственная сельскохозяйственная академия имени Т.С. Мальцева») по специальности «агрономия». В этом же институте учился в аспирантуре (научный руководитель – профессор М.И. Плотников) и в 1972 г. в Армянском сельскохозяйственном институте (ныне Национальный аграрный университет Армении, Ереван) защитил кандидатскую диссертацию на тему «Бурая пятнистость люцерны и агротехнические мероприятия, ограничивающие ее вредоносность в условиях

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Челябинский научно-исследовательский институт сельского хозяйства», п. Тимирязевский, Чебаркульский район, Челябинская обл., Россия

<sup>2</sup> Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина, Омск, Россия

<sup>3</sup> Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

<sup>4</sup> ТОО «Актюбинская СХОС», г. Актобе, Республика Казахстан

<sup>5</sup> Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>6</sup> Организация продовольствия и сельского хозяйства ООН, г. Эр-Рияд, Саудовская Аравия

<sup>1</sup> Chelyabinsk Research Institute of Agriculture, village Timiryazevsky, Chebarkulsk district, Chelyabinsk region, Russia


<sup>2</sup> Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin, Omsk, Russia


<sup>3</sup> Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

<sup>4</sup> Aktubinskaya SHOS LLP, Aktobe, Republic of Kazakhstan

<sup>5</sup> Federal Research Center Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St.-Petersburg, Russia

<sup>6</sup> Food and Agriculture Organization of the United Nations, Riyadh, Saudi Arabia

 vp.shamanin@omgau.org

 Кушниренко И.Ю., Шаманин В.П., Шрейдер Е.Р., Гончаров Н.П., Салина Е.А., Цыганков В.И., Зуев Е.В., Моргунов А.И., 2021



Владимир Александрович Тюнин

Зауралья» по специальности 06.540 – «фитопатология и защита растений» (Тюнин, 1972).

С 1971 г. до конца жизни Владимир Александрович работал в Челябинском научно-исследовательском институте сельского хозяйства (ранее Челябинская областная сельскохозяйственная опытная станция, Южно-Уральский научно-исследовательский институт земледелия, в настоящее время ФГБНУ Челябинский НИИСХ), расположенном в п. Тимирязевский Чебаркульского района Челябинской области. Прошел большой творческий путь, занимая последовательно должности зав. отделом защиты растений, зав. лабораторией иммунитета растений и зав. лабораторией селекции яровой пшеницы.

Приняв эстафету селекции яровой мягкой пшеницы от южно-уральских ученых старшего поколения (В.К. Рюб, В.Я. Величкина), Владимир Александрович поднял ее на новый, более высокий научно-методический и практический уровень. Его основные исследования посвящены решению проблем экологии яровой мягкой пшеницы на Южном Ура-

ле и разработке методических основ селекции, в том числе оптимизации экотипа пшеницы для различных агроклиматических зон Челябинской области. При этом важнейшей целью ставилось создание сортов, устойчивых к совокупности лимитирующих высокие урожаи факторам, в первую очередь грибным болезням и гидротермическим стрессам.

Многолетняя целенаправленная работа в области иммунитета растений и заложенные В.А. Тюниным научные традиции предопределили успешные результаты по созданию устойчивых к болезням сортов, которые играют заметную роль в повышении валовых сборов зерна в регионе и улучшении фитосанитарного состояния посевов.

Он одним из первых в Уральском и Западно-Сибирском регионах широко применил полевую иммунологическую оценку и отборы селекционного материала пшеницы по устойчивости к бурой и стеблевой ржавчине с использованием искусственных инфекционных фондов. Развитию этого селекционного направления способствовала организация в 1974 г. в Челябинском НИИСХ лаборатории иммунитета

растений, которую Владимир Александрович возглавлял на протяжении 16 лет. С переходом в 1990 г. на должность заведующего лабораторией селекции яровой пшеницы он особое внимание уделял расширению генетического потенциала (биоразнообразия) пшеницы в селекции на иммунитет к бурой ржавчине с привлечением доноров чужеродных генов устойчивости. В качестве таких источников интенсивно использовали образцы мягкой пшеницы с транслокациями от *Aegilops umbellulata* Zhuk., несущими эффективный на то время и утративший устойчивость после 2007 г. ген *Lr9 (LrTr)*. С ним была создана целая серия сортов: Дуэт, Челябинка 2, Памяти Рюба, Челябинка юбилейная, Челябинка степная и Челябинка ранняя. В последние годы актуальной задачей стало дальнейшее расширение генетического разнообразия мягкой пшеницы по устойчивости к бурой ржавчине. С этой целью привлекаются новые доноры устойчивости, несущие чужеродные транслокации с генами от *Secale cereale* L., *Aegilops speltoides* Tausch, *Agropyron elongatum* (Host) P. Beauv. (= syn. *Elytrigia elongata* (Host) Nevski, *Agropyron intermedium* (Host) Beauv. (= syn. *Thinopyrum intermedium* (Host) Barkworth & D.R. Dewey), *Aegilops tauschii* Coss., *Aegilops ventricosa* Tausch. Им была создана плеяда сортов: Челябинка 75, Челябинка 80, Памяти Одинцовой, Ильменская 2, в геномы которых привнесены ранее не использованный российскими селекционерами ген устойчивости к бурой ржавчине *LrSp*, интродуцированный от *Aegilops speltoides*.

Под руководством Владимира Александровича были проведены приоритетные для российской аграрной науки фундаментальные исследования, посвященные мало изученному фитопатологическому объекту – углеводно-белковому истощению семян (УБИС), снижающему в отдельные годы на 30–50% урожайность пшеницы и качество зерна. Полученные данные позволили уточнить этиологию, первопричины и следствия этой болезни, установить роль сопряженных с ней факторов – переувлажнения, полегания, распространения ржавчины. Были разработаны оригинальные методики оценки проявления УБИС и принципы ведения селекции на устойчивость к этой болезни. Владимир Александрович также обратил особое внимание на актуальность избыточного увлажнения, которое наиболее опасно в северной части Челябинской области, где это проявляется каждый третий год и даже в засушливой степи наблюдается каждый пятый год. По результатам анализа изменчивости урожайности мягкой пшеницы, в зависимости от вариации гидротермических условий в период вегетации В.А. Тюнин пришел к заключению о необходимости создания сортов, совмещающих в себе признаки относительной засухоустойчивости и резистентности к избытку влаги. Возможность разрешения проблемы была обоснована методически и подтверждена на примере таких сортов, как Эритроспермум 59 и Челябинка 75, экотип которых наиболее близок к оптимальному для условий региона.

По результатам многолетних научных исследований в 2005 г. в диссертационном совете Омского ГАУ им успешно защищена докторская диссертация на тему «Селекция яровой мягкой пшеницы в условиях Южного Урала» по специальности 06.01.05 – «селекция и семеноводство» (научный консультант – профессор В.П. Шаманин) (Тюнин, 2005).

Владимир Александрович Тюнин был одним из ведущих селекционеров яровой мягкой пшеницы в урало-сибирском регионе. Он является соавтором 31 сорта этой культуры. Из них в «Государственный реестр селекционных достижений...» (2020) включены 14, в том числе в последние пять лет 3 сорта – Уральская кукушка, Челябинка ранняя и Силач. В настоящее время два новых сорта, созданных под его руководством (Памяти Одинцовой, Челябинка), проходят государственное сортоиспытание.

Благодаря высоким адаптивным свойствам и ценным хозяйственно полезным признакам сорта яровой мягкой пшеницы, созданные В.А. Тюниным, имеют весомые конкурентные преимущества в Челябинской области и за ее пределами. В настоящее время они возделываются на площади около 300 тыс. гектаров. Существующие у них различия по длине вегетационного периода (спелости) важны для использования в разных природно-климатических зонах Южного Урала – от северных лесостепных ландшафтов до южных степных. Большое значение Владимир Александрович придавал созданию для Челябинской области, особенно северной ее части, раннеспелых сортов. Достижением в этом направлении стал сорт Челябинка ранняя, обладающий уникальной способностью формировать полноценный урожай в течение 70–80 суток. В последние годы наиболее широкое распространение и признание среди южно-уральских производителей зерна получил сорт Челябинка 75, который занимает в Челябинской области свыше 30% сортовых посевов культуры и является единственным коммерческим сортом в регионе с высокой комплексной устойчивостью к бурой, стеблевой и желтой ржавчине.

Владимир Александрович был авторитетным ученым и признанным в кругах селекционеров исследователем в области растениеводства, селекции зерновых культур и иммунитета растений. Он автор и соавтор 106 опубликованных научных работ. Результаты исследований В.А. Тюнин неоднократно представлял на научных конференциях, семинарах и совещаниях различного уровня.

Особое значение Владимир Александрович придавал расширению и укреплению научных связей. Многолетняя плодотворная работа с селекционерами Омского ГАУ увенчалась созданием совместных сортов Эритроспермум 59, Нива 2, Дуэт и других. В настоящее время успешно продолжается сотрудничество коллектива селекционеров Челябинского НИИСХ с учеными ряда ведущих научных учреждений России (ВИР, ВИЗР, ИЦиГ СО РАН и др.) и Казахстана, а также с Международным центром улучшения кукурузы и пшеницы (СИММИТ, Мексика) по вопросам селекции яровой пшеницы. На высоком организационном и методическом уровне Владимир Александрович провел международный семинар участников казахстанско-сибирской сети улучшения пшеницы по программе Казахстанско-Сибирской сети улучшения яровой пшеницы (КАСИБ). При посещении селекционных полей участники семинара единодушно отметили высокий методический уровень проведения селекционных исследований в Челябинском НИИСХ, большой объем разнообразного исходного материала, селекционных линий и сортов в опытах лаборатории селекции, возглавляемой Владимиром Александровичем Тюниным. Сорт Силач, созданный под ру-



Коллектив лаборатории селекции мягкой яровой пшеницы Челябинского НИИСХ на селекционном участке, п. Тимирязевский, 10.09.2013. Фото И.Ю. Кушниренко



В.А. Тюнин во время посещения Международного центра улучшения кукурузы и пшеницы (СИММУТ). Мексика, 2011.  
Фото из домашнего архива В.А. Тюнина



Участники совещания-семинара «КАСИБ-2010» в Челябинском НИИСХ, п. Тимирязевский, 2010.



Участники совещания-семинара «КАСИБ-2010» на опытном поле Челябинского НИИСХ, п. Тимирязевский, 2010.  
Фото В.И. Цыганкова



В.А. Тюнин на селекционном участке. 07.05.2009. Фото Е.Р. Шрейдер



Осмотр питомника «КАСИБ 09» в Челябинском НИИСХ. Слева направо: В.А. Тюнин, Ян Манес, А.И. Моргунов (СИММИТ, Турция), сотрудники лаборатории Е.Р. Шрейдер и И.В. Запывалова, п. Тимирязевский, 07.08.2009. Фото из домашнего архива В.А. Тюнина



Посещение селекционного участка Челябинского НИИСХ членами Правительства Челябинской обл. На переднем плане слева направо: директор Института А.В. Вражнов, зав. лаб. селекции мягкой яровой пшеницы В.А. Тюнин, министр сельского хозяйства И.Е. Фёклин, губернатор П.И. Сумин, первый заместитель губернатора А.Н. Косилов, п. Тимирязевский, 11.09.2007. Фото из домашнего архива В.А. Тюнина



Большой любитель «тихой охоты» В.А. Тюнин за сбором грибов. Фото из архива В.А. Тюнина



ководством В.А. Тюнина, при испытании в течение двух лет (2017–2018) в питомнике «КАСИБ 18» показал наибольшую урожайность среди 50 сортов России и Казахстана. По условиям программы Силач принят в качестве международного стандарта на 2019–2020 гг. в питомнике «КАСИБ 20».

Владимир Александрович был увлеченным человеком, любил зимнюю рыбалку, был заядлым грибником, садоводом-любителем, прекрасным фотографом. Он до последних дней был вместе со своим коллективом и в период посевных и уборочных работ трудился в поле.

За плодотворную научно-исследовательскую работу и внедрение селекционных достижений в практику В.А. Тюнину было присвоено почетное звание «заслуженный агроном РФ» (1999), он был награжден медалью «За труды по сельскому хозяйству» (2006) и знаком «Изобретатель СССР», серебряной медалью ВДНХ.

Светлая память о Владимире Александровиче навсегда останется в сердцах его друзей и коллег.

## Список литературы / References

- Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1. «Сорта растений» (официальное издание). М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2020.  
[State Register for Selection Achievements Admitted for Usage (National List). Vol.1 "Plantvarieties" (official publication). Moscow: FG-BNU "Rosinformagrotekh", 2020. (In Russian)]
- Тюнин В.А. Бурая пятнистость люцерны и агротехнические мероприятия, ограничивающие ее вредоносность в условиях Зауралья. Дис. ... канд. с.-х. наук. Ереван, 1972.  
[Tyunin V.A. Brown spotting of alfalfa and agrotechnical measures limiting its harmfulness in the conditions of the Trans-Urals. Diss. ... of Cand. Agricul. Sci. Yerevan, 1972. (In Russian)]
- Тюнин В.А. Селекция мягкой яровой пшеницы в условиях Южного Урала. Дис. ... д-ра с.-х. наук. Тюмень, 2005.  
[Tyunin V.A. Breeding of common spring wheat in the conditions of the Southern Urals. Diss. ... of Dr. Agricul. Sci. Tyumen, 2005. (In Russian)]

## Хронологический указатель основных научных трудов В.А. Тюнина

### 1975

Основные результаты научно-исследовательских работ отдела защиты растений: Сб. науч. работ. Челябинская гос. с.-х. опытная станция. Челябинск, 1975;5:147-153. (соавт. Копытовская М.А.)

### 1979

Зависимость интенсивности поражения пшеницы твердой головней от инфекционной нагрузки. В: Пути увеличения производства продукции растениеводства в Сибири: Науч.-техн. бюл. Сиб. отд. ВАСХНИЛ. Новосибирск, 1979;12:6-7.

### 1980

Влияние физических методов предпосевной обработки зерновых культур на качество семян. В: Резервы увеличения производства зерна на Южном Урале: Сб. науч. тр. Сиб. отд. ВАСХНИЛ. Новосибирск, 1980. С. 80-83. (соавт. Величина В.Я., Глазырин В.Ф., Кушниренко И.Ю.)

Изучение влияния лазерного облучения семян на устойчивость к головневым заболеваниям. В: Проблемы химизации и защиты растений Южного Урала, Сибири и Дальнего Востока: Науч.-техн. бюл. Сиб. отд. ВАСХНИЛ. Новосибирск, 1980;1(35):4-5. (соавт. Кушниренко И.Ю.)

### 1981

Зональные системы земледелия Челябинской области. Челябинск, 1981. 378 с. (соавт. Анисимов М.И., Братко М.П. и др.)

### 1984

Селекция яровой пшеницы на устойчивость к бурой и стеблевой ржавчине в Южно-Уральском НИИ земледелия. В: Технология производства семян зерновых культур в Сибири: Сб. науч. тр. Сиб. отд. ВАСХНИЛ. Новосибирск, 1984. С. 90-95. (соавт. Величина В.Я.)

Взаимодействие *Triticum – Tilletiacaries* (DC) tul при возрастающей общей заспоренности семян пшеницы и в моделируемых очагах болезни. С.-х. биология. 1984;11:63-66. (соавт. Кушниренко И.Ю., Иванова И.В.)

### 1985

Интенсивные технологии возделывания яровой пшеницы в Челябинской области: Рекомендации. ЮжУралНИИЗ. Новосибирск, 1985. 43 с. (соавт. Кушниренко Ю.Д., Шумских К.И. и др.)

### 1986

Краткие рекомендации по освоению интенсивной технологии возделывания яровой пшеницы. Челябинск, 1986. 40 с. (соавт. Фрумин И.Л., Шумских К.И. и др.)

### 1987

Агротехнические рекомендации по интенсивным методам земледелия в хозяйствах Челябинской области. Челябинск, 1987. 94 с. (соавт. Козаченко А.П., Савинский В.П. и др.)

Рекомендации по системам земледелия Челябинской области. Горно-лесная зона. Челябинск, 1987. 254 с. (соавт. Братко М.А., Василиженко А.И. и др.)

Рекомендации по системам земледелия Челябинской области. Северная лесостепь. Челябинск, 1987. 294 с. (сост. Братко М.А., Василиженко А.И. и др.)

Рекомендации по системам земледелия Челябинской области. Южная лесостепь. Челябинск, 1987. 272 с. (сост. Братко М.А., Василиженко А.И. и др.)

Рекомендации по системам земледелия Челябинской области. Степная зона. Челябинск, 1987. 220 с. (сост. Братко М.А., Василиженко А.И. и др.)

### 1990

Устойчивость сортов зерновых культур к наиболее вредоносным заболеваниям в Челябинской области. В: Увеличение производства зерна и кормов на основе интенсификации земледелия: Сб. науч. тр. Челябинский НИИСХ. Челябинск, 1990. С. 65-67. (соавт. Мотовилова Л.В., Запывалова И.В.)

Технология возделывания и уборки сельскохозяйственных культур, заготовки зерна и кормов: Рекомендации. п. Тимирязевский, 1990. 156 с. (сост. Анисимова Е.П., Бабошина Х.А. и др.)

### 1994

Концепция разработки адаптивно-ландшафтных систем земледелия Челябинской области. ЧНИИСХ. Челябинск, 1994. 49 с. (сост. Вражнов А.В., Кушниренко Ю.Д. и др.)

Селекционный аспект этиологии энзимо-микозного истощения семян яровой мягкой пшеницы. С.-х. биология. 1994. № 3. С. 48-51. (соавт. Вражнова Р.А.)

### 1996

Система ведения агропромышленного производства Челябинской области на 1996–2000 гг. Челябинск, 1996. 232 с. (сост. Абрамова В.Е., Агафонова Л.К. и др.)

Селекция и семеноводство сельскохозяйственных культур в адаптивно-ландшафтных системах земледелия. Сорта яровой пшеницы. В: Рекомендации по освоению адаптивно-ландшафтных систем земледелия Челябинской области. ЧНИИСХ. Челябинск, 1996. С. 73-76.

### 1999

Итоги и перспективы селекции яровой пшеницы. В: Производство зерна и кормов в агроландшафтном земледелии: агрохимические, экономические и экологические аспекты: Сб. науч. тр. Челябинский НИИСХ. Миасс: Геотур, 1999. С. 123-130.

Хозяйственно-биологическая оценка линий типа «кукушки» в условиях Южного Урала. В: Производство зерна и кормов в агроландшафтном земледелии: агрохимические, экономические и экологические аспекты: Сб. науч. тр. Челябинский НИИСХ. Миасс: Геотур, 1999. С. 131-134. (соавт. Тимофеева И.А., Терещенко Е.Р.)

## 2000

Этиология энзимо-микозного истощения семян пшеницы и ее сопряженность с результатами и задачами селекции. В: Новые адаптивные технологии производства продукции земледелия и животноводства: Сб. науч. тр. Челябинский НИИСХ. Миасс: Геотур, 2000. С. 153-162. (соавт. Запывалова И.В.)

Климатическая обусловленность энзимо-микозного истощения семян пшеницы в Челябинской области в связи с задачами селекции. В: Новые адаптивные технологии производства продукции земледелия и животноводства: Сб. науч. тр. Челябинский НИИСХ. Миасс: Геотур, 2000. С. 163-168. (соавт. Запывалова И.В.)

Значение остистости колоса в селекции на устойчивость яровой мягкой пшеницы к энзимо-микозному истощению семян (ЭМИС) и на общую адаптивность сортов. В: Новые адаптивные технологии производства продукции земледелия и животноводства: Сб. науч. тр. Челябинский НИИСХ. Миасс: Геотур, 2000. С. 169-174. (соавт. Запывалова И.В.)

Углеводно-белковое истощение семян пшеницы как следствие деадаптации растений. В: Новые адаптивные технологии производства продукции земледелия и животноводства: Сб. науч. тр. Челябинский НИИСХ. Миасс: Геотур, 2000. С. 175-181. (соавт. Запывалова И.В.)

Влияние углеводно-белкового истощения семян пшеницы на разплодность вдоль оси колоса в связи с новым представлением об этиологии болезни и признаке болезнестойчивости. В: Новые адаптивные технологии производства продукции земледелия и животноводства: Сб. науч. тр. Челябинский НИИСХ. Миасс: Геотур, 2000. С. 182-187. (соавт. Запывалова И.В.)

## 2002

Селекционная показательность антоциановой пигментации соломки яровой мягкой пшеницы в связи с созданием сортов устойчивых к углеводно-белковому истощению семян (УБИС). В: Культурные растения для устойчивого сельского хозяйства в XXI веке (иммунитет, селекция, интродукция): Науч. тр. РАСХН. М.: Россельхозакадемия, 2002. С. 165-174.

Влияние адаптации яровой мягкой пшеницы к условиям лесостепи предгорий Южного Урала на ее зерновую продуктивность. В: Культурные растения для устойчивого сельского хозяйства в XXI веке (иммунитет, селекция, интродукция): Науч. тр. РАСХН. М.: Россельхозакадемия, 2002. С. 312-325.

## 2003

Результаты селекции мягкой яровой пшеницы на устойчивость к бурой ржавчине на Южном Урале. В: Ресурсосберегающие и экологически безопасные технологии в адаптивном земледелии: Сб. науч. тр. Челябинский НИИСХ. Челябинск, 2003. С. 151-158. (соавт. Запывалова И.В., Прядун Ю.П., Шрейдер Е.Р.)

Устойчивость к углеводно-белковому истощению семян (УБИС) в системе основных признаков адаптивности пшеницы в условиях лесостепи Южно-Уральских предгорий. В: Ресурсосберегающие и экологически безопасные технологии в адаптивном земледелии: Сб. науч. тр. Челябинский НИИСХ. Челябинск, 2003. С. 159-164. (соавт. Запывалова И.В., Шрейдер Е.Р.)

Проблемы селекции яровой мягкой пшеницы для Южного Урала и Западной Сибири в связи с устойчивостью к углеводно-белковому истощению семян (УБИС) в колосе и общей адаптивностью сортов. В: Ресурсосберегающие и экологически безопасные технологии в адаптивном земледелии: Сб. науч. тр. Челябинский НИИСХ. Челябинск, 2003. С. 165-187. (соавт. Шаманин В.П., Коваль С.Ф. и др.)

Видонеспецифическая устойчивость яровой мягкой пшеницы к головне и зависимость ее от погодных условий. В: Ресурсосберегающие и экологически безопасные технологии в адаптивном земледелии: Сб. науч. тр. Челябинский НИИСХ. Челябинск, 2003. С. 188-190. (соавт. Запывалова И.В., Шрейдер Е.Р.)

Углеводно-белковое истощение семян как фактор снижения их посевных качеств у яровой мягкой пшеницы. В: Ресурсосберегающие и экологически безопасные технологии в адаптивном

земледелии: Сб. науч. тр. Челябинский НИИСХ. Челябинск, 2003. С. 191-193. (соавт. Разорвина Е.В., Анисимова Е.П., Запывалова И.В.)

Сорт – основа повышения урожайности зерновых и кормовых культур. В: Рекомендации по использованию научного и производственного опыта повышения продуктивности зернового и кормового поля в хозяйствах Челябинской области. Челябинск, 2003. С. 5-16. (соавт. Вражнов А.В.)

Динамика устойчивости сортов мягкой яровой пшеницы к бурой ржавчине как результат селекции в Челябинском НИИСХ. *Вестн. ЧГАУ*. Челябинск, 2003;39:155-157. (соавт. Шрейдер Е.Р., Запывалова И.В.)

## 2004

Развитие селекции мягкой яровой пшеницы. *Земледелие*. 2004;5:5-6. Региональные особенности и экологическая направленность селекции мягкой яровой пшеницы на Южном Урале. *Вестник Саратовского ГАУ*. 2004;3:31-32.

Яровая пшеница Дуэт. *Селекция и семеноводство*. 2004;2:15-16. (соавт. Шрейдер Е.Р., Запывалова И.В.)

## 2005

Экологическая и фитопатологическая сущность избыточной влагообеспеченности мягкой яровой пшеницы в Челябинской области. В: Культурные растения для устойчивого сельского хозяйства в XXI веке: Науч. тр. РАСХН, отделение защиты растений. М., 2005. С. 156-164. (соавт. Шаманин В.П., Шрейдер Е.Р.)

Селекция на урожайность мягкой яровой пшеницы для Челябинской области. В: Проблемы аграрного сектора Южного Урала и пути их решения. Челябинск, 2005. С. 21-26. (соавт. Шрейдер Е.Р.)

Изучение образцов мягкой яровой пшеницы в ЧНИИСХ по программе СИММИТ. В: Аграрная наука Урала: вопросы теории и практики. Сб. науч. тр. ЧНИИСХ (материалы конференции к 70-летию ЧНИИСХ). Челябинск, 2005. С. 8-10. (соавт. Шрейдер Е.Р.)

Яровая пшеница Челябинка 2. *Селекция и семеноводство*. 2005;2:32-33. (соавт. Шрейдер Е.Р., Запывалова И.В., Шаманин В.П.)

## 2006

Причины избыточности влагообеспеченности мягкой яровой пшеницы в Челябинской области. *Сибирский вестник с.-х. науки*. 2006;1(161):30-34. (соавт. Шаманин В.П., Шрейдер Е.Р.)

## 2007

Линия типа «кукушки» – перспективный источник в селекции мягкой яровой пшеницы на ржавчинустойчивость. В: Достижения аграрной науки – производству. 2007. С. 103-106. (соавт. Шрейдер Е.Р., Запывалова И.В.)

## 2008

Новый сорт пшеницы Памяти Рюба. В: Инновационные процессы в сельскохозяйственном производстве: наука и практика. Оренбург, 2008. С. 81-82. (соавт. Шрейдер Е.Р.)

## 2009

Селекция мягкой яровой пшеницы в Челябинском НИИСХ. *Земледелие*. 2009;4:38-39. (соавт. Шрейдер Е.Р., Запывалова И.В.)

Опыт селекции яровой мягкой пшеницы на устойчивость к неблагоприятным факторам в условиях Западной Сибири и Южного Урала. Агромеридаи. 2009. С. 34-40. (соавт. Шаманин В.П., Шрейдер Е.Р., Пьянов В.П., Трущенко А.Ю., Чурсин А.С.)

## 2010

Особенности технологии селекции мягкой яровой пшеницы на устойчивость к углеводно-белковому истощению семян и другим стрессам в условиях Южного Урала: монография. Челябинск: ЧНИИСХ, 2010. 120 с. (соавт. Шрейдер Е.Р.)

Природа и значимость «черного зародыша» семян мягкой яровой пшеницы. *Сибирский вестник с.-х. науки*. 2010;5:57-61. (соавт. Шрейдер Е.Р.)

## 2011

Системы земледелия для различных агроландшафтов Челябинской области. В: Челябинск: Челябинский НИИСХ Россельхозакадемии. 2011. 145 с. (сост. Вражнов А.В., Брагин В.Н., Гималов Х.Х., и др.)

Селекция мягкой яровой пшеницы на расоспецифическую устойчивость к бурой ржавчине в условиях Южного Урала. В: Культурные растения для устойчивого сельского хозяйства в XXI веке. Науч. тр. РАСХН, отделение защиты растений. М., 2011. С. 108-111. (соавт. Шрейдер Е.Р., Запывалова И.В., Мешкова Л.В.)

О селекции мягкой яровой пшеницы на устойчивость к избыточной влагообеспеченности на Южном Урале. *Вестник РАСХН*. 2011;5:39-41. (соавт. Шрейдер Е.Р.)

#### 2012

Экологическое испытание ультраскороспелых форм мягкой пшеницы в условиях разного фотопериода. *Доклады РАСХН*. 2012;2:3-8. (сост. Вражнов В.А., Кошкин В.А., Ригин Б.В., Потокина Е.К., Шрейдер Е.Р. и др.)

#### 2017

Характеристика вирулентности популяций *Puccinia triticina* и перспективы использования генов *Lr24*, *Lr25*, *Lr5p* в селекции яровой мягкой пшеницы на Южном Урале. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2017;21(5):523-529. (соавт. Шрейдер Е.Р., Гультьева Е.И., Шайдаюк Е.Л.)

Ценная зерновая культура полба. *Журнал АПК России*. 2017;24(3): 649-654. (соавт. Шрейдер Е.Р., Бондаренко Н.П., Гунько Г.В., Совков Н.Н.)

#### 2018

Генетическая структура популяций *Puccinia triticina* – возбудителя бурой ржавчины пшеницы (*Triticum aestivum*) в Азиатских регионах РФ и Северном Казахстане. С.-х. *биология*. 2018;53(1):85-95. (соавт. Гультьева Е.И., Шайдаюк Е.Л., Шаманин В.П., Ахметова А., Шрейдер Е.Р., Кашина И.В., Ерошенко Л.А., Середя Г.А., Моргунов А.И.)

Результаты селекции пшеницы в Челябинском НИИСХ. *АПК России*. 2018;25(1):57-62. (соавт. Шрейдер Е.Р., Бондаренко Н.П.)

Вирулентность возбудителя бурой ржавчины пшеницы на Южном Урале. *Вестник защиты растений*. 2018;1:116-120. (соавт. Шрейдер Е.Р., Гультьева Е.И., Шайдаюк Е.Л.)

Особенности наследования транслокации, несущей ген устойчивости к бурой ржавчине, от *Aegilops speltoides* Tausch на хромосому 2d мягкой пшеницы. *Генетика*. 2018;54(8):969-974. (соавт. Адонина И.Г., Букалич Е.Ю., Пискарев В.В., Шрейдер Е.Р., Салина Е.А.)

Селекционно-генетические аспекты создания продуктивных форм мягкой яровой пшеницы с высокой скоростью развития. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2018;179(3):194-202. (соавт. Ригин Б.В., Зувев Е.В., Шрейдер Е.Р., Пыженкова З.С., Матвиенко И.И.)

#### 2020

Актуальные задачи и результаты селекции мягкой яровой пшеницы на Южном Урале. *Известия Оренбургского ГАУ*. 2020;1(81):38-42. (соавт. Шрейдер Е.Р., Бондаренко Н.П., Кушниренко И.Ю., Гультьева Е.И.)

Экологические особенности селекции мягкой яровой пшеницы на Южном Урале на устойчивость к стрессовым факторам. *АПК России*. 2020;27(5):767-771. (соавт. Шрейдер Е.Р., Кушниренко И.Ю., Бондаренко Н.П., Гультьева Е.И.)

#### Авторские свидетельства и патенты

А.с. № 2955. Сорт мягкой яровой пшеницы Россиянка / соавт. Рюб В.К., Колпакова А.А., Величина В.Я., Кушниренко И.Ю.; опубл. 22.12.1981.

А.с. № 4340. Сорт мягкой яровой пшеницы Уралочка / соавт. Рюб В.К., Величина В.Я., Колпакова А.А., Кузнецов Н.И., Вражнова Р.А., Никифорова Е.Л.; опубл. 14.10.1987.

А.с. № 6372. Сорт яровой пшеницы Эритроспермум 59 / соавт. Шаманин В.П., Леонтьев С.И., Пьянов В.П., Семенова М.В., Величина В.Я., Вражнова Р.А., Исламова М.Н.; опубл. 11.04.1994.

А.с. № 6988. Сорт мягкой яровой пшеницы Изумрудная / соавт. Величина В.Я., Вражнова Р.А., Вдовин А.Г., Узбекова М.Н.; опубл. 08.02.1996.

А.с. № 27717. Сорт мягкой яровой мягкой пшеницы Нива 2 / соавт. Вражнова Р.А., Леонтьев С.И., Пьянов В.П., Храмова Н.В., Шаманин В.П., Шрейдер Е.Р.; опубл. 18.02.1997.

А.с. № 34759. Сорт мягкой яровой пшеницы Дуэт / соавт. Биленко Н.А., Вражнова Р.А., Запывалова И.В., Шаманин В.П., Шрейдер Е.Р.; опубл. 21.01.2003.

А.с. № 39298. Сорт мягкой яровой пшеницы Челябинка 2 / соавт. Шрейдер Е.Р., Биленко Н.А., Запывалова И.В., Коваль С.Ф., Тимофеева И.А., Шаманин В.П.; опубл. 25.01.2005.

А.с. № 39299. Сорт мягкой яровой пшеницы Памяти Рюба / соавт. Шрейдер Е.Р., Биленко Н.А., Запывалова И.В., Шаманин В.П.; опубл. 26.01.2006.

А.с. № 50150. Сорт мягкой яровой пшеницы Челябинка юбилейная / соавт. Запывалова И.В., Шаманин В.П., Шрейдер Е.Р., Чирков Н.М., Коваль В.С.; опубл. 14.04.2010.

А.с. № 56068. Сорт мягкой яровой пшеницы Челябинка степная / соавт. Запывалова И.В., Шрейдер Е.Р., Чирков Н.М., Громова Л.Д.; опубл. 03.10.2011.

А.с. № 58198. Сорт яровой пшеницы Челябинка 75 / Запывалова И.В., Шрейдер Е.Р., Чирков Н.М., Громова Л.Д., Одинцова И.Г.; опубл. 26.10.2012.

А.с. № 69478. Сорт мягкой яровой пшеницы Челябинка ранняя / соавт. Запывалова И.В., Коваль С.Ф., Шрейдер Е.Р.; опубл. 30.11.2012.

А.с. № 69477. Сорт мягкой яровой пшеницы Уральская кукушка / соавт. Запывалова И.В., Одинцова И.Г., Шрейдер Е.Р., Юдина А.А.; опубл. 30.11.2016.

А.с. № 75107. Сорт мягкой яровой пшеницы Силач / соавт. Бондаренко Н.П., Громова Л.Д., Гультьева Е.И., Зыкин В.А., Колобков Ю.А., Кушниренко И.Ю., Совков Н.Н., Шрейдер Е.Р.; опубл. 21.05.2020.

Патент № 0274 на селекционное достижение: пшеница мягкая яровая Эритроспермум 59 / соавт. Величина В.Я., Вражнова Р.А., Исламова М.Н., Леонтьев С.И., Пьянов В.П., Семнова М.В., Шаманин В.П.; опубл. 3.02.1999.

Патент № 2375 на селекционное достижение: пшеница мягкая яровая Дуэт / соавт. Биленко Н.А., Вражнова Р.А., Запывалова И.В., Шаманин В.П., Шрейдер Е.Р.; опубл. 21.10.2004.

Патент № 2868 на селекционное достижение: пшеница мягкая яровая Челябинка 2 / соавт. Биленко Н.А., Запывалова И.В., Коваль С.Ф., Тимофеева И.А., Шаманин В.П., Шрейдер Е.Р.; опубл. 14.11.2005.

Патент № 3502 на селекционное достижение: пшеница мягкая яровая Памяти Рюба / соавт. Биленко Н.А., Запывалова И.В., Коваль С.Ф., Тимофеева И.А., Шаманин В.П., Шрейдер Е.Р.; опубл. 19.02.2007.

Патент № 5361 на селекционное достижение: пшеница мягкая яровая Челябинка юбилейная / соавт. Запывалова И.В., Коваль В.С., Чирков Н.М., Шаманин В.П., Шрейдер Е.Р.; опубл. 14.04.2010.

Патент № 6087 на селекционное достижение: пшеница мягкая яровая Челябинка степная / соавт. Запывалова И.В., Чирков Н.М., Шрейдер Е.Р., Громова Л.Д.; опубл. 03.10.2011.

Патент № 6602 на селекционное достижение: пшеница мягкая яровая Челябинка 75 / соавт. Громова Л.Д., Запывалова И.В., Одинцова И.Г., Чирков Н.М., Шрейдер Е.Р.; опубл. 26.10.2012.

Патент № 8729 на селекционное достижение: пшеница мягкая яровая Челябинка ранняя / соавт. Запывалова И.В., Коваль С.Ф., Шрейдер Е.Р.; опубл. 30.11.2016.

Патент № 8728 на селекционное достижение: пшеница мягкая яровая Уральская кукушка / соавт. Запывалова И.В., Одинцова И.Г., Шрейдер Е.Р., Юдин А.А.; опубл. 30.11.2016.

Патент № 11082 на селекционное достижение: пшеница мягкая яровая Силач / соавт. Бондаренко Н.П., Громова Л.Д., Гультьева Е.И., Зыкин В.А., Колобков Ю.А., Кушниренко И.Ю., Совков Н.Н., Шрейдер Е.Р.; опубл. 21.05.2020.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 22.04.2021. После рецензирования 21.06.2021. Принята к публикации 28.06.2021.

«Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции» – сетевое научное издание открытого доступа. Основано в 2015 году (до 2019 года выходило под названием «Письма в Вавиловский журнал»). На страницах издания публикуются результаты экспериментальных, методических и теоретических исследований, аналитические обзоры по всем разделам генетики и селекции, а также по смежным областям биологических и сельскохозяйственных наук; материалы и документы по истории генетики и селекции; описания сортов растений и пород животных; рецензии; письма, адресованные редактору; персоналии и мемориальные статьи; хроника и информация из региональных отделений Вавиловского общества генетиков и селекционеров.

Всем статьям присваивается DOI.

Входит в РИНЦ и DOAJ.

Цель издания – донести новейшие результаты фундаментальных и прикладных исследований в области генетики растений, животных, человека, микроорганизмов, описание новых методов и селекционных достижений до наибольшего числа ученых, включая специалистов из смежных областей науки и техники, а также до преподавателей вузов, читающих курсы лекций по генетике и селекции.

Регистрационное свидетельство СМИ Эл № ФС77-75536 выдано 08 мая 2019 года Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор).

Прием статей осуществляется через электронную почту редакции: [pismavavilov@bionet.nsc.ru](mailto:pismavavilov@bionet.nsc.ru)

Адрес издания в сети интернет: <http://pismavavilov.ru/>

При перепечатке материалов ссылка на журнал обязательна.

Учредитель и издатель: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН)

Адрес учредителя и издателя: проспект Академика Лаврентьева, 10, Новосибирск, 630090

Адрес редакции: проспект Академика Лаврентьева, 10, Новосибирск, 630090

Телефон редакции: (383) 363 4963, доб. 5316

✉ Электронный адрес редакции: [pismavavilov@bionet.nsc.ru](mailto:pismavavilov@bionet.nsc.ru)

Выпуск подготовлен информационно-издательским отделом ИЦиГ СО РАН

Дата публикации: 20.09.2021