

EDN: HCCGTF

УДК 58.084 (571.1)

Certification of Samples in the Bioresource Collection USU 44053 CSBG SB RAS Using Digital Seed Library and Cytological and Genetic Methods

**Olga Yu. Vasilyeva^{*a},
Sultan Kh. Vyshegurov^b, Margarita V. Kozlova^a,
Alexander V. Agafonov^a and Olga V. Dorogina^{a, c}**
*^aCentral Siberian Botanical Garden of the SB RAS
Novosibirsk, Russian Federation
^bNovosibirsk State Agricultural University
Novosibirsk, Russian Federation
^cNovosibirsk State University
Novosibirsk, Russian Federation*

Received 13.05.2022, received in revised form 18.09.2022, accepted 28.11.2022

Abstract. One of the current trends in research of botanical institutions is the creation of bioresource collections, which are used in scientific experiments, applied research, and education. In the Central Siberian Botanical Garden of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (CSBG SB RAS), the bioresource collection USU 44053 is used not only for scientific research, but also for the training of bachelors and masters of biological and agricultural sciences. The purpose of the present work is to describe research methods employed in the CSBG SB RAS to certify resources and characterize specimens in bioresource collections of rare and economically valuable plants using modern molecular genetic approaches and digital technologies. The characterization of collection specimens is based on the most permanent features such as morphometric parameters of seeds. Micrographs of the digital seed library make it possible to describe the morphological features of seeds and carry out statistical processing of morphometric parameters using a Carl Zeiss Stereo Discovery V12 stereomicroscope with an AxioCam MRC-5 high-resolution digital sensor (AxioVision 4.8 software). In the work with the digital seed library, descriptive-morphological and statistical methods of data processing are used. To date, the digital library of the CSBG has more than 280 accessions, the species of the families Asteraceae,

© Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

* Corresponding author E-mail address: vasil.flowers@rambler.ru
ORCID: 0000-0003-0730-3365 (Vasilyeva O.); 0000-0002-4180-1643 (Vyshegurov S.); 0000-0002-3347-5948 (Kozlova M.); 0000-0002-1403-5867 (Agafonov A.); 0000-0001-5729-3594 (Dorogina O.)

Brassicaceae, Caryophyllaceae, Poaceae, Rosaceae, and Solanaceae being the most diversely represented in it. The data on the morphology and morphometry of seeds of the species belonging to the families Amaranthaceae, Begoniaceae, Capparaceae, Hydrophyllaceae, Onagraceae, Paeoniaceae, Papaveraceae, Polemoniaceae, Scrophulariaceae, and Verbenaceae are also used in the educational process. Additional characterization is provided by microphotographs of karyotypes, which reveal chromosome races among representatives of intraspecific diversity. Storage proteins of mature seeds are the most convenient markers for studying intra- and interspecific variability and specifying taxonomic diversity, for related species as well. Therefore, electrophoretic analysis of the composition of seed storage proteins is an effective method for characterizing plant genotypes included in the bioresource collections. An important characteristic of the samples included in bioresource collections is the description of their reproductive systems, in particular, seed formation under different pollination modes. Electrophoretic analysis used to identify the types of seed reproduction in perennial grasses of the *Triticeae* tribe showed that in all species of *Elymus* L., the spectra of sister grains were highly identical, supporting the idea of self-pollination being the main reproduction type of the species of this genus. By contrast, in *Agropyron cristatum* (L.) Gaertn., the spectra of the seeds of the same plant showed high heterogeneity, indicating cross-pollination and multiple allelism in the genes that control prolamin proteins.

Keywords: bioresource collection, digital seed library, karyotype, storage protein electrophoresis, *Hordeum vulgare* L., *Matthiola incana* (L.) Aiton., *Salvia splendens* Sellow ex Schult., *Elymus* L., *Agropyron cristatum* (L.) Gaertn., *Elytrigia repens* (L.) Desv. ex Nevski, *Elytrigia geniculata* (Trin.) Nevski, *Psathyrostachys juncea* (Fisch.) Nevski, *Hordeum jubatum* L.

Acknowledgements: This study was conducted within the framework of state assignments for Central Siberian Botanical Garden SB RAS (project “Analysis of biodiversity, conservation and restoration of rare and resource plant species using experimental methods”, No. AAAA21–121011290025–2) and with the financial support of the FSUS-2021–0012 project “Ecosystems of grass pine and small-leaved forests as regulators of nitrogen and carbon balance in the forest-steppe landscape of Western Siberia”. The materials of the bioresource scientific collection of the CSBG SB RAS – USU 44053 “Collections of living plants in open and closed ground” were used in the experiments.

Citation: Vasilyeva O. Yu., Vyshegurov S. Kh., Kozlova M. V., Agafonov A. V., Dorogina O. V. Certification of samples in the bioresource collection USU 44053 CSBG SB RAS using digital seed library and cytological and genetic methods. J. Sib. Fed. Univ. Biol., 2023, 16(1), 24–40. EDN: HCCGTF.



Паспортизация объектов биоресурсной коллекции USU 44053 ЦСБС СО РАН с использованием цифровой семенотеки и цитолого-генетических методов

**О. Ю. Васильева^а, С. Х. Вышегуров^б,
М. В. Козлова^а, А. В. Агафонов^а, О. В. Дорогина^{а, в}**
*^аЦентральный сибирский ботанический сад СО РАН
Российская Федерация, Новосибирск
^бНовосибирский государственный аграрный университет
Российская Федерация, Новосибирск
^вНовосибирский национальный
исследовательский государственный университет
Российская Федерация, Новосибирск*

Аннотация. Одним из современных направлений исследований ботанических учреждений является создание биоресурсных коллекций, которые используются для проведения научных экспериментов, прикладных разработок и в образовательном процессе. В Центральном сибирском ботаническом саду СО РАН на базе биоресурсной коллекции USU 44053 проводятся не только научные исследования, но также подготовка бакалавров и магистрантов биологических и сельскохозяйственных специальностей. Цель работы – описание методов, используемых в ЦСБС СО РАН для паспортизации и характеристики объектов биоресурсных коллекций редких и хозяйственно-ценных растений с использованием современных молекулярно-генетических методов и цифровых технологий. Для характеристики коллекционных образцов привлекаются наиболее константные признаки, например морфометрические показатели семян. Микрофотографии цифровой семенотеки позволяют описать морфологические признаки семян и провести статистическую обработку морфометрических параметров с использованием стереомикроскопа Carl Zeiss Stereo Discovery V12 с цифровой камерой высокого разрешения AxioCam MRc-5 (программное обеспечение AxioVision 4.8). При работе с цифровой семенотекой используются описательно-морфологический и статистический методы обработки данных. К настоящему времени цифровая семенотека ЦСБС насчитывает более 280 образцов, наиболее широко в ней представлены виды семейств Asteraceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Poaceae, Rosaceae, Solanaceae. Также в учебном процессе используются сведения по морфологии и морфометрии семян видов, входящих в семейства Amaranthaceae, Begoniaceae, Capparaceae, Hydrophyllaceae, Onagraceae, Paeoniaceae, Papaveraceae, Polemoniaceae, Scrophulariaceae, Verbenaceae. Дополнительной характеристикой являются микрофотографии кариотипов, позволяющие выявить среди представителей внутривидового разнообразия коллекционных образцов хромосомные расы. Для изучения внутри- и межвидовой изменчивости и уточнения таксономического разнообразия, в том числе родственных видов, наиболее удобными маркерами являются запасные белки зрелых семян. Поэтому электрофоретическое исследование состава запасных белков семян является эффективным методом характеристики генотипов растений, входящих в биоресурсные

коллекции. Важной характеристикой объектов, входящих в биоресурсные коллекции, является описание присущих им систем размножения, в частности завязывания семян при различных способах опыления. Проверка возможности использования электрофоретического метода с целью идентификации способов семенной репродукции у многолетних злаков трибы *Triticeae* показала, что у всех видов *Elymus* L. спектры сестринских зерновок в высокой степени идентичны, что подтверждает представление о самоопылении как основной форме размножения видов этого рода. У *Agropyron cristatum* (L.) Gaertn., напротив, спектры характеризовались высокой гетерогенностью семян с индивидуального растения, что является показателем перекрестного опыления при наличии множественного аллелизма по генам, контролирующим проламиновые белки.

Ключевые слова: биоресурсная коллекция, цифровая семенотека, кариотип, электрофорез запасных белков, *Hordeum vulgare* L., *Matthiola incana* (L.) Aiton., *Salvia splendens* Sellow ex Schult., *Elymus* L., *Agropyron cristatum* (L.) Gaertn., *Elytrigia repens* (L.) Desv. ex Nevski, *Elytrigia geniculata* (Trin.) Nevski, *Psathyrostachys juncea* (Fisch.) Nevski, *Hordeum jubatum* L.

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания Центрального сибирского ботанического сада СО РАН – Проекта «Анализ биоразнообразия, сохранение и восстановление редких и ресурсных видов растений с использованием экспериментальных методов» (номер государственной регистрации АААА-А21–121011290025–2), а также при финансовой поддержке проекта № FSUS-2021–0012 «Экосистемы травяных сосновых и мелколиственных лесов как регуляторы азотного и углеродного баланса в лесостепном ландшафте Западной Сибири». В экспериментах использовались материалы биоресурсной научной коллекции ЦСБС СО РАН – USU 44053 «Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте».

Цитирование: Васильева, О. Ю. Паспортизация объектов биоресурсной коллекции USU 44053 ЦСБС СО РАН с использованием цифровой семенотеки и цитолого-генетических методов / О. Ю. Васильева, С. Х. Вышегуров, М. В. Козлова, А. В. Агафонов, О. В. Дорогина // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2023. 16(1). С. 24–40. EDN: HCCGTF.

Введение

Одним из важнейших направлений исследований отечественных и зарубежных ботанических садов является изучение и сохранение растительного биоразнообразия, а также обоснование его рационального использования (Volis, Blecher, 2010; Heywood, Iriondo, 2003; Новикова, 2013). Традиционно данные работы проводятся как *in situ*, так и *ex situ*. Особую теоретическую значимость имеет изучение внутривидового полиморфизма в естественных местообитаниях, а прикладным аспектом является поиск в природе видов и форм с потенциальными хозяйственно-ценными признаками.

К числу новейших научных направлений относится создание биоресурсных коллекций (Васильева и др., 2018), под которыми, согласно определению Минобрнауки, понимается «научно-систематизированное, документированное и гарантированно сохраняемое на долгосрочной основе собрание биологических объектов естественного и (или) искусственного происхождения, обладающее общим набором специфических характеристик, используемое для проведения научных исследований, прикладных разработок и (или) образовательного процесса». Иными словами это – систематизированные хранилища био-

логического материала в любых комбинациях и формах. Как правило, коллекции собираются десятилетиями и описывают огромное число образцов (https://minobrnauki.gov.ru/documents/?ELEMENT_ID=36155; Лашин и др., 2018).

Имеющиеся и создаваемые коллекции сельскохозяйственных растений и их дикорастущих сородичей, такие как УНУ «Генетическая коллекция растительных ресурсов ВНИИССОК» (<http://ckp-rf.ru/usu/508567/>) и УНУ «Коллекция генетических ресурсов риса, овощных и бахчевых культур» (<http://www.vniirice.ru/page/structure/semennaya-kolleksiya-fgbnu-vnii-risa>), имеют непосредственное отношение к исполнению Указа Президента Российской Федерации № 350 от 21.07.2016 г. «О мерах по реализации государственной научно-технической политики в интересах развития сельского хозяйства». Оценка устойчивости и продуктивности образцов подобных коллекций является важным прикладным аспектом исследований (Осипова, 2021).

В условиях сибирского региона крупнейшей биоресурсной коллекцией является ГенАгро, созданная на базе генетической коллекции растений ИЦиГ СО РАН и коллекции полевых культур СибНИИРС, насчитывающая в настоящее время более 11 тысяч образцов. Это линии, сорта, гибриды и дикорастущие формы растений, по которым имеется информация об их морфологических, физиологических, биохимических и генетических характеристиках. Центр коллективного пользования ГенАгро предоставляет образцы коллекционного материала научным организациям и высшим учебным заведениям для проведения исследований в области генетики и селекции растений (<http://ckp.icgen.ru/plants/>).

В Центральном сибирском ботаническом саду СО РАН (г. Новосибирск) в биоресурсную коллекцию USU № 440534 входят кол-

лекция редких и исчезающих видов, а также коллекция декоративных растений.

Многолетние наблюдения за видами, формами и сортами – коллекционными образцами – позволяют накопить и статистически обработать данные по их сезонному развитию, онтогенезу, морфогенезу и репродуктивной биологии. Многие признаки, особенно количественные, обладают высокой экологической пластичностью, подвержены влиянию конкретных метеоусловий периодов зимовки и вегетации. Однако для описания образцов в качестве объектов биоресурсных коллекций необходимо выбирать наиболее константные показатели (Сарлаева, Васильева, 2021).

Цель настоящей работы – описание методов, используемых в ЦСБС СО РАН для паспортизации и характеристики объектов биоресурсных коллекций редких и хозяйственно-ценных растений с использованием современных молекулярно-генетических методов и цифровых технологий.

Цифровая семенотека

К числу наиболее константных признаков относятся морфометрические характеристики семян, которые иногда даже используются в качестве диагностических признаков, особенно при привлечении современных возможностей сканирующей электронной микроскопии. Поэтому для проведения научных исследований и использования в образовательном процессе возможностей биоресурсной коллекции ЦСБС было начато создание цифровой семенотеки (Васильева, Сарлаева, 2021). Первыми объектами стали виды однолетних красивоцветущих и декоративно-лиственных растений, а также декоративных злаков. На первом этапе цифровая семенотека составлялась за счет морфологических описаний и получения морфометрических характеристик семян местной репродукции видов однолетних декоративных

растений, собранных на экспериментальных участках, входящих в биоресурсную коллекцию ЦСБС (сем. *Amaranthaceae*, *Asteraceae*, *Begoniaceae*, *Brassicaceae*, *Capparaceae*, *Caryophyllaceae*, *Hydrophyllaceae*, *Onagraceae*, *Raeoniaceae*, *Papaveraceae*, *Polemoniaceae*, *Scrophulariaceae*, *Solanaceae*, *Verbenaceae*). В дальнейшем были описаны семена различных образцов, собранных в процессе экспедиций в естественных местообитаниях (сем. *Asteraceae*, *Caryophyllaceae*, *Raeoniaceae*, *Roaceae*, *Ranunculaceae*, *Rosaceae*).

Описание формы семян и поверхности семенной кожуры проводилось по общепринятым методикам (Дымина, Черемушкина, 2003) с использованием стереомикроскопа Carl Zeiss Stereo Discovery V12 с цифровой камерой высокого разрешения AxioCam MRc-5 (программное обеспечение AxioVision 4.8). Полученные морфометрические параметры использовались для статистической обработки, которая проводилась с применением программы Excel (Доспехов, 1985).

Снимки семян в одном поле зрения делались дважды (рис. 1). На первом снимке, используемом для описания цвета, формы и скульптуры поверхности, проставлялась масштабная линейка (1 мм). На втором снимке того же поля зрения у выполненных семян

указывались конкретные параметры длины и ширины, а у имеющих округлую форму – диаметр.

В случае с крупными семенами делался третий снимок уже другого поля зрения, чтобы получить по 10–12 параметров длины и ширины (рис. 2).

Этого числа измерений оказалось достаточно для подавляющего большинства образцов (табл. 1), чтобы собрать статистически достоверные данные о размерах семян (относительная ошибка не превышала 5 %).

Данные морфометрические характеристики дополняют сведения, касающиеся потенциальной и реальной семенной продуктивности, что в совокупности является одним из важнейших показателей успешности интродукции конкретных таксонов.

Высокая информативность цифровой семенотеки заключается в подборе достаточно унифицированных (посредством использования стереомикроскопа Carl Zeiss Stereo Discovery V12) оцифрованных изображений в отличие от разрозненных микрофотографий, выполненных с использованием различной микротехники. Материалы по работе с цифровой семенотеккой включены в рабочую тетрадь (Васильева, 2021), что позволяет студентам изучить широкий спектр

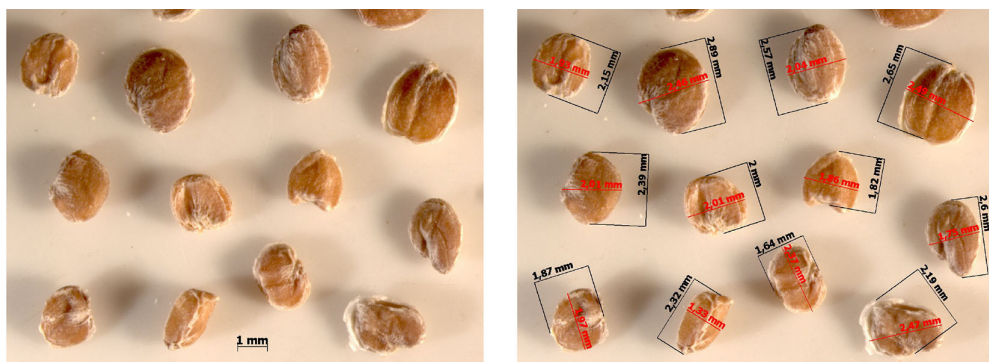


Рис. 1. *Matthiola incana* (L.) Aiton. Форма (слева) и размеры (справа) семян

Fig. 1. *Matthiola incana* (L.) Aiton. Shape (left) and size (right) of seeds



Рис. 2. *Salvia splendens* Sellow ex Schult. Размеры семян в первом (слева) и втором (справа) поле зрения
 Fig. 2. *Salvia splendens* Sellow ex Schult. Seed sizes in the first (left) and second (right) fields of view

Таблица 1. Размеры семян однолетних и многолетних декоративных растений

Table 1. Seed sizes of annual and perennial ornamental plants

Вид	Размеры семян, мм	Статистические показатели		
		$\bar{x} \pm S_x$	V%	$S_{x\%}$
<i>Matthiola incana</i>	длина	$2,34 \pm 0,10$	14,10	4,27
	ширина	$1,97 \pm 0,09$	16,24	4,57
<i>Salvia splendens</i>	длина	$3,00 \pm 0,05$	5,33	1,67
	ширина	$1,81 \pm 0,05$	8,84	2,76
<i>Festuca glauca</i>	длина	$5,45 \pm 0,21$	12,11	3,85
	ширина	$0,78 \pm 0,03$	14,10	3,88

Примечание: \bar{x} – средняя арифметическая; S_x – ошибка средней; V% – коэффициент вариации; $S_{x\%}$ – относительная ошибка средней

видов на практических занятиях. Таким образом, при работе с цифровой семенотекой на первом этапе используются описательно-морфологический и статистический методы обработки данных. Анализ образцов семян однолетних декоративных растений показал, что *Ageratum houstonianum*, *Amaranthus caudatus*, *A. paniculatus*, *Arctotis stoechadifolia*, *Brachycome iberidifolia*, *Gilia capitata*, *G. tricolor*, *Godetia amoena*, *Iberis amara*, *I. umbellata*, *Lavatera trimestris*, *Mentzelia lindleyi*, *Mimulus luteus*, *Nicandra physaloides*, *Phacelia tanacetifolia*, *Salpiglossis sinuata*, *Salvia splendens*, *Venidium fastuosum* образуют в местных условиях выполненные качествен-

ные семена, что подтвердилось в дальнейшем их высокой лабораторной, тепличной, а у образцов, размножаемых подзимним и весенним посевом, – и грунтовой всхожестью.

Хромосомный анализ

Цитологические исследования выполняются согласно рекомендациям Центра коллективного пользования микроскопического анализа биологических объектов ЦСБС СО РАН (Красников и др., 2016). Семена зерновой культуры (*Hordeum vulgare* L.) помещаются в чашки Петри на предварительно смоченную дистиллированной водой фильтровальную бумагу и проращиваются при комнатной

температуре (+20°C) до появления всходов, периодически увлажняя.

Процесс приготовления давленных препаратов для кариологического анализа состоит из предварительной обработки растительного материала, фиксации, окраски и собственно приготовления препарата. Предфиксационная обработка материала проводится в 0,2 % растворе колхицина в течение 2-х часов, фиксация материала в фиксаторе Кларка.

Ряд объектов наших исследований относится к категории редких видов или находящихся под угрозой исчезновения (Новикова, Дорогина, 2010), а также не отличается высокой семенной продуктивностью (Фомина, 2012), кроме того семенам некоторых видов присущ не вынужденный, а глубокий покой (Vasil'eva, 2009). Поэтому при освоении студентами и аспирантами семеноведческих и цитологических методик нами задействованы представители сем. Мятликовые (Poaceae), отличающиеся крупными зерновками, находящимися в состоянии вынужденного покоя, традиционно используемые в качестве сидератов (рис. 3). *Hordeum vulgare* является одним из основных модельных объектов, используемых в учебном процессе. На рис. 3 показан микропрепарат кариотипа, выполненный в рамках подготовки магистерской диссертации. После освоения

методик на модельных объектах приступают к цитологическим исследованиям коллекционных образцов.

Электрофоретические спектры проламинов и запасных белков семени

Важной характеристикой объектов, входящих в биоресурсные коллекции, является описание присущих им систем размножения, в частности завязывания семян при различных способах опыления (ксеногамии, автогамии, гейтоногамии) или апомиктическим путем. В ЦСБС интересными модельными объектами для изучения ксеногамии, перманентной нечетной полиплоидии (Грант, 1984), а также автогамии является родовой комплекс *Rosa* L. (Vasil'eva, 2009), а также родовой комплекс *Elymus* L. (Пырейник), многие представители которого используются в качестве кормовых или декоративных злаков. В условиях континентального климата виды пырейников *ex situ* можно размножать вегетативно, а также семенами (рис. 4).

В биоресурсной коллекции ЦСБС каждый вид пырейника представлен большим числом образцов, собранных из различных частей природного ареала. Исходные местонахождения образцов и авторы сбора приведены в табл. 2. Изучались семена дикорастущих

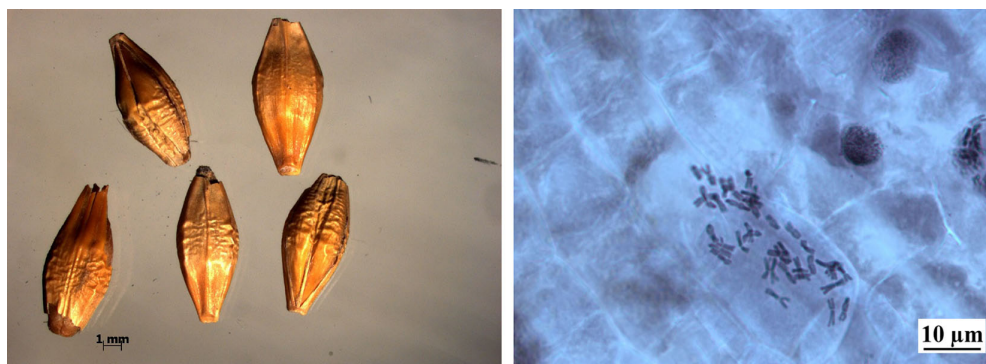


Рис. 3. *Hordeum vulgare* L. Форма семян (слева) и общий вид кариотипа (справа)

Fig. 3. *Hordeum vulgare* L. The shape of the seeds (left) and the general appearance of the karyotype (right)

растений видов *Elymus*, собранные авторами в Сибири, в Приморском крае, а также в Западном и Центральном Тянь-Шане в пределах Республики Кыргызстан. Экстракцию и разделение проламинов из изолированного

эндосперма индивидуальных зерновок проводили по ранее описанным методикам (Агафонов, Агафонова, 1990; Агафонова, Агафонов, 1991), а процедуры по выделению суммарных запасных белков эндосперма и электро-

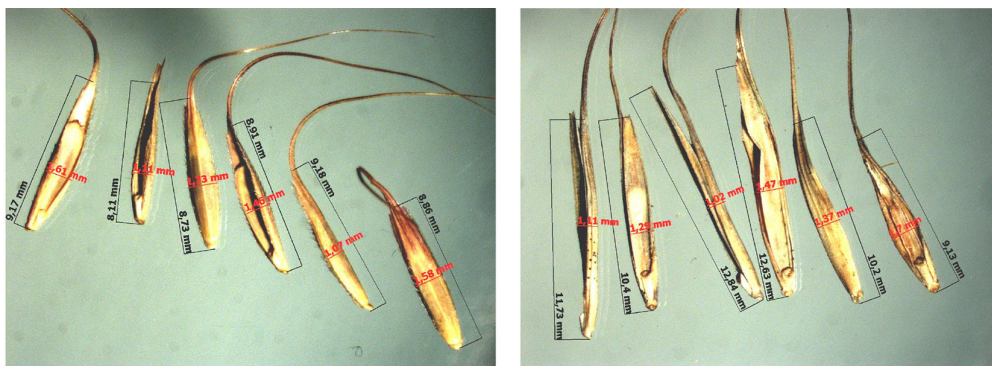


Рис. 4. *Elymus ciliaris* (Trin.) Tzvel. (слева) и *Elymus sibiricus* L. (справа)

Fig. 4. *Elymus ciliaris* (Trin.) Tzvel. (left) and *Elymus sibiricus* L. (right)

Таблица 2. Происхождение образцов видов *Elymus* L., используемых в данной работе

Table 2. Origins of *Elymus* L. specimens used for the current research

Вид	Код образца (популяции)	Местонахождение, автор сбора
<i>E. sibiricus</i> L.	ALT-8401	Респ. Алтай, Шебалинский р-н, окр. пос. Топучая (А. Красников)
<i>E. pendulinus</i> (Nevski) Tzvel.	VLA-8601	Приморский кр., окр.г. Владивостока (А. Агафонов, О. Агафонова)
<i>E. pendulinus</i>	MES-8608	Приморский кр., Хасанский р-н, окр. пос. Анисимовка (А. Агафонов, О. Агафонова)
<i>E. pendulinus</i>	GAL-8913	Респ. Алтай, Онгудайский р-н, дол.р. Б. Ильгумень (А. Агафонов, О. Агафонова)
<i>E. fedtschenkoi</i> Tzvel.	CHA-8745	Кыргызстан, Зап. Тянь-Шань, хр. Чандалаш (А. Агафонов, О. Агафонова)
<i>E. praecaesitosus</i> (Nevski) Tzvel.	CHA-8708	то же
<i>E. praecaesitosus</i>	CUR-8803	Кыргызстан, Центр. Тянь-Шань, хр. Терскей Ала-Тоо, окр. пос. Каджи-Сай (А. Агафонов, О. Агафонова)
<i>E. caninus</i> (L.) L.	BEL-93	Алтайский кр., Смоленский р-н, окр. пос. Белокуриха, галечник вдоль р. Белокурихи (А. Агафонов)
<i>E. nutans</i> Griseb.	PMR-8902	Зап. Памир, окр.г. Хорог (И. Красноборов)
<i>E. nutans</i>	BAR-8801 BAR-8804	Кыргызстан, Центр. Тянь-Шань, хр. Терскей Ала-Тоо, ущ. Барскаун (А. Агафонов, О. Агафонова)
<i>E. tschimganicus</i> (Drobow) Tzvelev	BAR-8803	то же

форез – по методике U.K. Laemmli (1970) с модификациями для многолетних злаков (Агафонов, Агафонова, 1992). В алюминий-лактатной и в SDS-системе ПААГ-электрофореза изучали спектры проламинов из индивидуальных зерновок с одного или с нескольких растений из разных видов и родов.

К сожалению, не всегда удается отличить один вид от другого только по морфологическим признакам, особенно если они близкородственные. Широкая морфологическая изменчивость, особенно у видов преимущественно с перекрестным типом опыления, спонтанная межвидовая и межродовая гибридизация значительно осложняют идентификацию растений и, следовательно, таксономическую классификацию. Крайне затруднен анализ морфологически однородных популяций, идентификация и маркирование особей, не имеющих внешних фенотипических различий. При изучении этой изменчивости появляется ряд проблем, например выявление индивидуальной изменчивости и, в частности, гибридных растений. Для этого необходимо использовать метод, позволяющий анализировать отдельные семена, независимо от их массы. Разработанная нами методика экстракции электрофоретического разделения в полиакриламидном геле (ПААГ) проламинов у многолетних представителей трибы *Triticeae* (Пшеницевые) позволяет идентифицировать генотипы с массой эндосперма 0,1–1,0 мг, отделяя при этом оболочку и зародыш. Разрешающей способности метода достаточно, чтобы анализировать половину зерновки, а оставшуюся часть вместе с зародышем проращивать и получать взрослое растение с известным исходным составом проламиновых компонентов спектра (Агафонов, Агафонова, 1990; Агафонова, Агафонов, 1991).

С помощью запасных белков зерновки можно проводить анализ не только внутри-

и межпопуляционной изменчивости для выявления генетического полиморфизма, для уточнения видовой принадлежности, а также определить, какой тип опыления присущ конкретному образцу, не проводя полевых опытов с изоляцией соцветий.

Для идентификации самоопыляющихся видов *Elymus* (в SDS-системе ПААГ-электрофореза) в анализ были взяты по 6 зерновок с каждого растения из алтайской популяции *E. caninus* BEL-93 (рис. 5). На рисунке показаны спектры зерновок с четырех растений популяции. Все сестринские зерновки были полностью идентичны (мономорфны) при незначительных различиях между растениями.

Это означает отсутствие генетического расщепления и, следовательно, высокий уровень гомозиготности растений характерен для данной популяции. В целом в результате анализа этих электрофоретических спектров выявлена полная идентичность спектров внутри каждого растения, но при этом обнаружена небольшая внутривидовая изменчивость.

При анализе дальневосточных видов *E. nutans* (35 растений) и *E. pendulinus* (23 растения) (по 2 зерновки с каждого растения) (рис. 6) мы обнаружили полную идентичность спектров внутри пары каждого вида, несмотря на значительные отличия между некоторыми растениями одного вида *E. praecaesпитосus* (рис. 6, образец № 8). Случаи неполного совпадения проламиновых спектров у сестринских зерновок отмечались у *E. tschimganicus* из Центрального Тянь-Шаня (рис. 6, образец № 10), что свидетельствует о возможности переопыления, обеспечивающего некоторый уровень гетерозиготности в природных популяциях. При этом для каждого вида был характерен свой специфический спектр проламинов.

Исходя из полученных результатов можно сделать вывод, что для полной характеристики по белкам эндосперма для видов

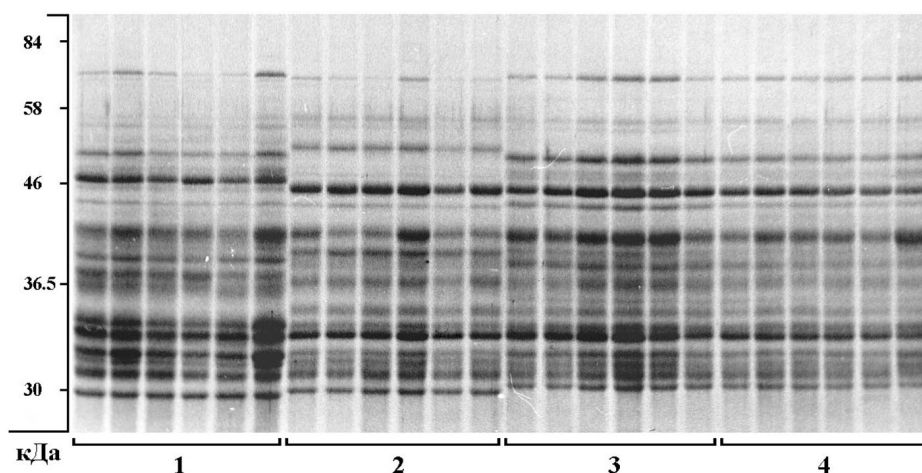


Рис. 5. SDS-электрофореграмма белков эндосперма с индивидуальных растений *E. caninus* (1–4) из популяции BEL-93. Полипептидные спектры отдельных зерновок в варианте с обработкой экстрактов редуцирующим агентом 2-меркаптоэтанол (+ Me)

Fig. 5. SDS-electrophoregram of endosperm proteins from individual *E. caninus* plants (1–4) from the BEL-93 population. Polypeptide spectra of individual grains in the variant with the treatment of extracts with the reducing agent 2-mercaptoethanol (+ Me)

рода *Elymus* достаточно двух-трех отдельных зерновок с растения, если не ставятся другие специальные задачи, например изучение внутри- и межпопуляционной изменчивости в пределах одного вида и др.

Электрофоретические спектры проламинов при необходимости можно использовать и для межродовой идентификации, а также для выявления типа опыления в роде в целом.

На рис. 7 можно видеть, что представители родов с перекрестным типом опыления (*Agropyron*, *Elytrigia*, *Psathyrostachys*) характеризуются изменчивостью компонентного состава проламинов даже у сестринских зерновок. При этом идентичность проламиновых спектров у зерновок вида *Hordeum jubatum* не случайна и может свидетельствовать о самоопылении вида как форме семенного размножения.

Таким образом, характер полипептидных спектров запасных белков эндосперма может служить критерием уровня гетерогенности популяций, что можно использовать как один из критериев для идентификации

и паспортизации популяций, видов и коллекции в целом. Метод применим также для объективного изучения динамики репродуктивных процессов, а также в целях мониторинга популяций в случаях истощения генофонда при антропогенном воздействии.

Особую теоретическую ценность в биоресурсных коллекциях имеют родовые комплексы, представленные образцами, собранными из различных частей ареала конкретных видов, позволяющие более углубленно изучать их генофонд, выявлять внутривидовые категории и хромосомные расы и в дальнейшем вовлекать их в селекцию.

Так, для идентификации и регистрации конкретных генотипов с помощью проламинов и глютелинов можно выявлять гибридные сорта и виды (Асбаганов и др., 2014; Губарева и др., 2015; Вишнякова, Гончаров, 2019), изучать внутривидовые и внутривидовые пулы и устанавливать межвидовые и геномные различия (Badaeva et al., 2019; Vaum et al., 2011; Grigoreva et al., 2019).

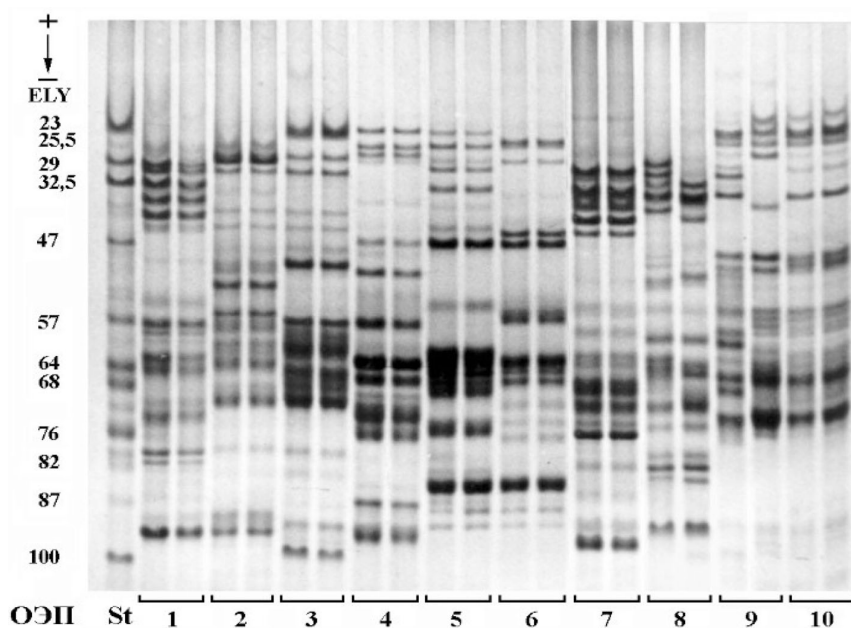


Рис. 6. Электрофореграммы проламинов разных видов *Elymus* L. Спектры проламинов сестринских зерновок в алюминий-лактатной гелево-буферной системе. *E. nutans*: 1. PMR-8902 (Памир); 2. BAR-8801; 3. BAR-8804 (Центр. Тянь-Шань). *E. pendulinus*: 4. VLA-8601 (г. Владивосток); 5. MES-8608 (Прим. край.); 6. GAL-8913 (Респ. Алтай). 7. *E. fedtschenkoi*: CHA-8745; *E. praecaesitosus*: 8. CHA-8708 (Зап. Тянь-Шань); 9. CUR-8803 (Центр. Тянь-Шань). 10. *E. tschimganicus*: BAR-8803 (Центр. Тянь-Шань). ОЭП – относительная электрофоретическая подвижность компонентов; St – эталонный спектр линии ALT-8401 *E. sibiricus*

Fig. 6. Electrophoregrams of prolamins of different *Elymus* L. species. Spectra of prolamins of sister grains in an aluminum-lactate gel-buffer system. *E. nutans*: 1. PMR-8902 (Pamir); 2. BAR-8801; 3. BAR-8804 (Central Tien Shan). *E. pendulinus*: 4. VLA-8601 (Vladivostok); 5. MES-8608 (Primorsky Krai); 6. GAL-8913 (Altai Republic). 7. *E. fedtschenkoi*: CHA-8745; *E. praecaesitosus*: 8. CHA-8708 (Tien Shan); 9. CUR-8803 (Central Tien Shan). 10. *E. tschimganicus*: BAR-8803 (Central Tien Shan). ОЭП – relative electrophoretic mobility of components; St – reference spectrum of the ALT-8401 *E. sibiricus* line

Авторами при изучении внутри- и меж-популяционной изменчивости на ряде объектов показано, что каждая популяция и каждый вид характеризуются различной изменчивостью и специфической картиной распределения компонентов запасных белков семени (Тарвердян и др., 2013; Есимбекова и др., 2015; Pomortsev et al., 2019).

Также, например, неоднократно высказывалось мнение, что для проламинов всех представителей трибы *Triticeae* характерно сходное распределение компонентов, и для их регистрации может быть применена единая номенклатура, разработанная для хлебных

культур (Конарев и др., 1983; Конарев, 2002). Результаты наших исследований не подтвердили этот тезис в отношении многолетних злаков трибы. Каждому таксону родового уровня свойственно специфическое распределение проламиновых компонентов на электрофореграммах, обусловленное их свойствами на молекулярно-генетическом уровне. Видимо, можно говорить о специфической архитектонике спектра, отражающей эволюцию базисных геномов (гапломов) или их стабильных комбинаций. По нашему мнению, многообразие молекулярных форм проламиновых белков многолетних злаков

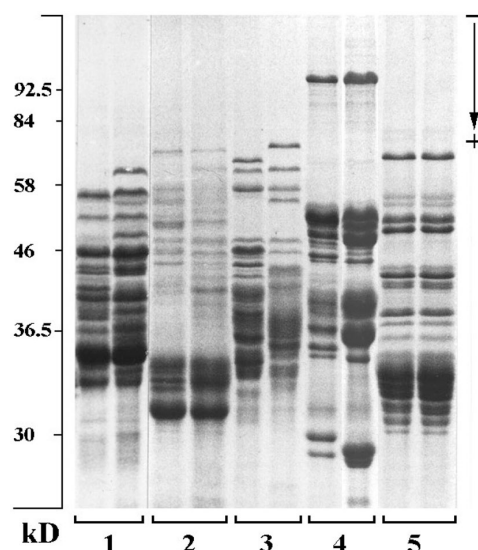


Рис. 7. SDS-электрофореграммы белков эндосперма у разных видов *Triticeae*. Полипептидные спектры сестринских зерновок в варианте с обработкой экстрактов редуцирующим агентом 2-меркаптоэтанол (+Me). Перекрестно опыляющиеся виды (1–4): 1. *Agropyron cristatum*; 2. *Elytrigia repens*; 3. *Elytrigia geniculata*; 4. *Psathyrostachys juncea*; 5. Самоопыляющийся вид *Hordeum jubatum*. kD – ориентировочная шкала молекулярных масс

Fig. 7. SDS-electrophoregrams of endosperm proteins in different species of *Triticeae*. Polypeptide spectra of sister grains in the variant with the treatment of extracts with the reducing agent 2-mercaptoethanol (+Me). Cross-pollinated species (1–4): 1. *Agropyron cristatum*; 2. *Elytrigia repens*; 3. *Elytrigia geniculata*; 4. *Psathyrostachys juncea*; 5. Self-pollinated species *Hordeum jubatum*. kD – approximate scale of molecular weights

не позволяет вести регистрацию отдельных компонентов спектра иначе, чем через величину относительной электрофоретической подвижности (ОЭП).

Дальнейшее развитие молекулярных методов исследований помогло создать новые тест-системы, позволившие анализировать генетический полиморфизм на уровне продуктов генов (белковый или биохимический полиморфизм) и на уровне генетического материала клетки (полиморфизм ДНК).

В настоящее время обсуждаются проблемы молекулярного полиморфизма и возможности его использования для решения теоретических и прикладных проблем генетических ресурсов растений, селекции. Адаптивный характер полиморфизма наиболее широко используемых белковых маркерных систем рассматривается как важнейший

аргумент для успешного использования белковых спектров не только в идентификации генетических ресурсов растений, но и для генетической дифференциации биоразнообразия, а также анализа генетических процессов, происходящих в популяциях в естественных условиях, в ходе репродукции, селекции и семеноводства (Конарев, 2002).

Заключение

Таким образом, при описании образца, входящего в биоресурсную коллекцию, следует внести в цифровую семенотеку микрофотографии, характеризующие форму, размеры семян и кариотип образца (на основании метафазных пластинок в корешках проростков данных семян).

Современный хромосомный анализ – это не просто описание кариотипа, а изучение хро-

мосом с помощью комплекса методов, позволяющих получать разностороннюю информацию об изучаемом объекте. Для этого проводится идентификация хромосом с использованием дифференциального окрашивания, гибридизации *in situ*, анализа изображения, определение локализации отдельных генов и их семейств и т.п. Такие исследования имеют общебиологическое значение, так как позволяют установить главные принципы организации генома растений в целом и их отдельных хромосом, выявить общие черты структуры генов и их регуляторных участков, рассмотреть соотношение функционально активной (генной) части хромосомы и различных не кодирующих белки межгенных участков ДНК. Хромосомные технологии в обозримом будущем приобретут большое значение и для эволюционной геномики растений.

В последние годы биологи все яснее осознают недостатки изучения только морфологических особенностей организма, поэтому там, где это целесообразно при решении ряда задач, в частности вопросов таксономии, филогении, эволюции, сохранения генофондов видов растений и т.д., используют молекулярно-генетические методы. Поэтому еще одним перспективным направлением работы с биоресурсными коллекциями является оптимизация сохранения генофондов редких и хозяйственно-ценных видов растений, перспективных популяций, отдельных форм и сортов посредством их молекулярно-генетической паспортизации и идентифика-

ции, включая оценку внутри- и межпопуляционной изменчивости, а также выявление типа опыления по полипептидным спектрам семян.

Наши исследования подтверждают данные, полученные рядом авторов о том, что наиболее удобными маркерами в этом отношении являются электрофоретические спектры многокомпонентных, или множественных, и генетически полиморфных белков семян с хорошо выраженной внутривидовой изменчивостью. По сравнению с другими методами идентификации, они позволяют оптимизировать характеристики генофондов разных видов растений с учетом показателей генетического разнообразия. Молекулярно-генетическая идентификация и паспортизация генофондов видов растений даёт возможность проведения отбора в природных условиях популяций и их групп, как с наиболее типичными, так и со специфичными характеристиками. Это необходимо для оптимизации сохранения генетического разнообразия и экологического статуса популяций и позволяет на основании относительной электрофоретической подвижности (ОЭП) запасных белков составить молекулярно-генетическую формулу популяции, вида и обобщить данные в виде генетического паспорта. Создание генбанков представляет собой чрезвычайно важную часть экологических исследований, так как оно направлено на сохранение информации о генетическом разнообразии растений из местных условий различных регионов мира.

Список литературы / References

Агафонов А. В., Агафонова О. В. (1990) Внутривидовая изменчивость проламинов пырейника сибирского, выявляемая методом одномерного электрофореза. *Генетика*, 2: 304–311 [Agafonov A. V., Agafonova O. V. (1990) Intraspecific variability of prolamins of Siberian wheatgrass, revealed by one-dimensional electrophoresis. *Genetics* [Genetika], 2: 304–311 (in Russian)]

Агафонова О. В., Агафонов А. В. (1991) *Повышение разрешающей способности электрофоретического метода для таксономических и генетико-селекционных исследований многолет-*

них злаков трибы Пшеницевые (*Triticeae*). Деп. ВИНТИ, № 2467 – В 91, 11 с. [Agafonova O. V., Agafonov A. V. (1991) *Improving the resolution of the electrophoretic method for taxonomic and genetic-breeding studies of perennial grasses of the tribe Wheat (Triticeae)*. Dep. VINITI, N 2467 – В 91, 11 p. (in Russian)]

Агафонов А. В., Агафонова О. В. (1992) Электрофоретические спектры проламина у образцов пырея бескорневищного различного происхождения. *Генетика*, 11: 1992–2001 [Agafonov A. V., Agafonova O. V. (1992) Electrophoretic spectra of prolamin in samples of couch grass of various origins. *Genetics* [Genetika], 11: 1992–2001 (in Russian)]

Асбаганов С. В., Кобозева Е. В., Агафонов А. В. (2014) Применение электрофореза запасных белков семядолей и ISSR-маркеров для идентификации гибридов между *Sorbus sibirica* Hedl. и *Sorbocotoneaster pozdnjakovii* Pojark. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 18(3): 486–496 [Asbaganov S. V., Kobozeva E. V., Agafonov A. V. (2014) Application of the electrophoresis of cotyledon proteins and ISSR-markers to the identification of hybrids between *Sorbus sibirica* Hedl. and *Sorbocotoneaster pozdnjakovii* Pojark. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding* [Vavilovskii zhurnal genetiki i seleksii], 18(3): 486–496 (in Russian)]

Васильева О. Ю. (2021) *Однолетние и двулетние декоративные растения: рабочая тетрадь*. Новосибирск, изд-во Новосибирского ГАУ, 39 с. [Vasilyeva O. Yu. (2021) *Annual and biennial ornamental plants: a workbook*. Novosibirsk, Novosibirsk State Agrarian University, 39 p. (in Russian)]

Васильева О. Ю., Дорогина О. В., Кубан И. Н., Сарлаева И. Я., Буглова Л. В. (2018) Методические аспекты изучения биоресурсных коллекций редких и хозяйственно-ценных растений. *Садоводство и виноградарство*, 4: 12–18 [Vasilyeva O. Yu., Dorogina O. V., Kuban I. N., Sarlaeva I. Ya., Buglova L. V. (2018) Methodical aspects of studying of bioresource collections of rare and economic valuable plants. *Horticulture and Viticulture* [Sadovodstvo i vinogradarstvo], 4: 12–18 (in Russian)]

Васильева О. Ю., Сарлаева М. Я. (2021) Создание цифровой семенотеки однолетних декоративных растений. *Вестник КрасГАУ*, 9: 24–29 [Vasilieva O. Yu., Sarlaeva M. Ya. (2021) Creating a digital seed library of annual ornamental plants. *Bulletin of the Krasnoyarsk State Agrarian University* [Vestnik KrasGAU], 9: 24–29 (in Russian)]

Вишнякова М. А., Гончаров Н. П. (2019) Институционализация генетики и отдалённой гибридизации растений в 1920–1930-е гг. в ВИРе. *Генетика*, 11: 1241–1252 [Vishnyakova M. A., Goncharov N. P. (2019) The institutionalising of genetics and distant hybridization of plants in VIR at the 1920–1930th. *Genetics* [Genetika], 11: 1241–1252 (in Russian)]

Грант В. (1984) *Видообразование растений*. М., Мир, 528 с. [Grant V. (1984) *Plant speciation*. Moscow, Mir, 528 p. (in Russian)]

Губарева Н. К., Гаврилюк И. П., Конарев А. В. (2015) Идентификация сортов сельскохозяйственных культур по электрофоретическим спектрам запасных белков. *Аграрная Россия*, 11: 21–27 [Gubareva N. K., Gavriljuk I. P., Konarev A. V. (2015) Identification of crop varieties by the electrophoretic spectra of reserve proteins. *Agrarian Russia* [Agrarnaya Rossiya], 11: 21–27 (in Russian)]

Доспехов Б. А. (1985) *Методика полевого опыта*. М., Агропромиздат, 351 с. [Dospakhov B. A. (1985) *Field experiment methodology*. М., Agropromizdat, 351 p. (in Russian)]

Дымина Г. Д., Черемушкина В. А. (2003) *Практикум по анатомии и морфологии высших растений*. Новосибирск, Изд. НГПУ, 130 с. [Dymina G. D., Cheremushkina V. A. (2003) *Workshop on anatomy and morphology of higher plants*. Novosibirsk, NSPU, 130 p. (in Russian)]

Есимбекова М. А., Булатова К. М., Кушанова Р. Ж., Мукин К. Б. (2015) Биоразнообразие дикорастущих видов из рода *Aegilops* L. в Казахстане для селекции пшеницы. *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*, 6: 5–18 [Yesimbekova M. A., Bulatova K. M., Kushanova R. Zh., Mukin K. B. (2015) Agrobiodiversity of wheat wild relatives (*Aegilops* L.) in Kazakhstan appropriate for wheat breeding. *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy* [Izvestiya Timiryazevskoi sel'skokhozyaistvennoi akademii], 6: 5–18 (in Russian)]

Конарев А. В. (2002) Адаптивный характер молекулярного полиморфизма и его использование в решении проблем генетических ресурсов растений и селекции. *Аграрная Россия*, 3: 4–11 [Konarev A. V. (2002) Adaptive nature of molecular polymorphism and its use in solving problems of plant genetic resources and breeding. *Agrarian Russia* [Agrarnaya Rossiya], 3: 4–11 (in Russian)]

Конарев В. Г., Пенева Т. И., Лубо-Лесниченко И. Ф. (1983) Анализ популяций культурной ржи по электрофоретическому спектру глиаина. *Сельскохозяйственная биология*, 1: 43–51 [Konarev V. G., Peneva T. I., Lubo-Lesnichenko I. F. (1983) Analysis of cultivated rye populations by the electrophoretic spectrum of gliadin. *Agricultural Biology* [Sel'skokhozyaistvennaya biologiya], 1: 43–51 (in Russian)]

Красников А. А., Полубоярова Т. В., Шишкин С. В. (2016) *Центр коллективного пользования микроскопического анализа биологических объектов ЦСБС СО РАН*. Новосибирск, Академическое изд-во «ГЕО», 47 с. [Krasnikov A. A., Poluboyarova T. V., Shishkin S. V. (2016) *Center for collective use of microscopic analysis of biological objects of the Central Siberian Botanical Garden of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences*. Novosibirsk, GEO, 47 p. (in Russian)]

Лашин С. А., Афонников Д. А., Генаев М. А., Казанцев Ф. В., Комышев Е. Г., Ощепкова Е. А., Петров А. В., Рассказов Д. А., Смирнова А. А., Колчанов Н. А. (2018) Информационная система по биоресурсным коллекциям институтов ФАНО России. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 22(3): 386–393 [Lashin S. A., Afonnikov D. A., Genaev M. A., Kazantsev F. V., Komyshev E. G., Oschepkova E. A., Petrov A. V., Rasskazov D. A., Smirnova A. A., Kolchanov N. A. (2018) An integrated information system on bioresource collections of the FASO of Russia. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding* [Vavilovskii zhurnal genetiki i selektsii], 22(3): 386–393 (in Russian)]

Новикова Т. И. (2013) Использование биотехнологических подходов для сохранения биоразнообразия растений. *Растительный мир Азиатской России*, 2: 119–128 [Novikova T. I. (2013) Use of biotechnological approaches for the conservation of plant biodiversity. *Flora and Vegetation of Asian Russia* [Rastitel'nyi mir Aziatskoi Rossii], 2: 119–128 (in Russian)]

Новикова Т. И., Дорогина О. В. (2010) Сохранение редких и исчезающих видов флоры Сибири методами ex situ. *Труды Томского государственного университета. Серия биологическая*, 274: 276–278 [Novikova T. I., Dorogina O. V. (2010) Ex situ conservation of rare and endangered species of Siberian flora. *Proceedings of Tomsk State University. Biological series* [Trudy Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya biologicheskaya], 274: 276–278 (in Russian)]

Осипова Ю. С. (2021) Продуктивность сортообразцов биоресурсной генетической коллекции хмеля обыкновенного в 4-ой закладке на пятый год жизни. *Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства*,

23: 116–119 [Osipova Yu. S. (2021) Productivity of variety samples of the bioresource genetic collection of common hop in the 4th laying in the fifth year of life. *Topical Issues of Improving the Technology of Production and Processing of Agricultural Products* [Aktual'nye voprosy sovershenstvovaniya tekhnologii proizvodstva i pererabotki produktsii sel'skogo khozyaistva], 23: 116–119 (in Russian)]

Сарлаева М. Я., Васильева О. Ю. (2021) Эколого-биологические особенности однолетних декоративных растений при подзимнем посеве в условиях континентального климата. *Самарский научный вестник*, 10(1): 142–150 [Sarlaeva M. Ya., Vasilyeva O. Yu. (2021) Ecological and biological features of annual ornamental plants under pre-winter sowing in a continental climate. *Samara Journal of Science* [Samarskii nauchnyi vestnik], 10(1): 142–150 (in Russian)]

Тарвердян А. П., Меликян А. Ш., Арутюнян М. Г., Оганесян М. Ц. (2013) Результаты использования генофонда диких сородичей зерновых культур Армении как средство для создания новых продуктивных сортов. *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*, 1: 71–78 [Tarverdyan A. P., Melikyan A. Sh., Harutyunyan M. G., Hovhannisyan M. Ts. (2013) The use of genetic resources of grain crops wild relatives in Armenia as a mean for developing new highly productive varieties. *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy* [Izvestiya Timiryazevskoi sel'skokhozyaistvennoi akademii], 1: 71–78 (in Russian)]

Фомина Т. И. (2012) *Биологические особенности декоративных растений природной флоры в Западной Сибири*. Новосибирск, Академ. Изд-во «ГЕО», 179 с. [Fomina T. I. (2012) *Biological features of ornamental plants of natural flora in Western Siberia*. Novosibirsk, GEO, 179 p. (in Russian)]

Badaeva E. D., Fisenko A. V., Surzhikov S. A., Yankovskaya A. A., Chikida N. N., Zoshchuk S. A., Belousova M. Kh., Dragovich A. Yu. (2019) Genetic heterogeneity of a diploid grass *Aegilops tauschii* revealed by chromosome banding methods and electrophoretic analysis of the seed storage proteins (gliadins). *Russian Journal of Genetics*, 55: 1315–1329

Baum B. R., Yang J.-L., Yen C., Agafonov A. V. (2011) A taxonomic synopsis of the genus *Campeiostrachys* Drobov. *Journal of Systematics and Evolution*, 49(2): 146–159

Iriondo J. M., Albert M. J., Escudero A. (2003) Structural equation modelling: an alternative for assessing causal relationships in threatened plant populations. *Biological Conservation*, 113(3): 367–377

Grigoreva E., Ulianich P., Ben C., Gentzmittel L., Potokina E. (2019) First insights into the Guar (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.) genome of the 'Vavilovskij 130' accession, using second and third-generation sequencing technologies. *Russian Journal of Genetics*, 55: 1406–1416

Heywood V. H., Iriondo J. M. (2003) Plant conservation: old problems, new perspectives. *Biological Conservation*, 113(3): 321–335

Laemmli U. K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259): 680–685

Pomortsev A. A., Rubanovich A. V., Kovaleva O. N., Lyalina E. V. (2019) Allelic diversity of *Hrd A* and *Hrd B* hordein-coding loci in wild (*Hordeum spontaneum* C. Koch) and cultivated (*Hordeum vulgare* L.) barley from Israel and Palestine. *Russian Journal of Genetics*, 55: 1347–1359

Vasil'eva O. Yu. (2009) Reproduction systems of representatives of the genus *Rosa* L. under conditions of continental climate. *Contemporary Problems of Ecology*, 2(4): 361–368

Volis S., Blecher M. (2010) Quasi *in situ*: a bridge between *ex situ* and *in situ* conservation of plants. *Biodiversity and Conservation*, 19: 2441–2454