

А.В. НЕДОЛУЖКО, Д.Б. ДОРОХОВ

Центр «Биоинженерия» РАН,
 проспект 60-летия Октября 7, корп. 1, Москва, 117312
 E-mail: nedoluzhko@gmail.com

ИЗУЧЕНИЕ БИОБЕЗОПАСНОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОЙ СОИ В ЦЕНТРЕ ПРОИСХОЖДЕНИЯ И РАЗНООБРАЗИЯ НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ



*Дикорастущая соя (*Glycine soja* Sieb. & Zucc.) является ближайшим родичем культурной сои (*Glycine max* (L.) Merr.). Исследование генетической структуры популяций и генетической изменчивости дикорастущих родичей генетически модифицированных (ГМ) растений в центрах их происхождения является одним из важнейших этапов перед принятием решения о внедрении ГМ-сортов. Нами был проведен анализ генетического разнообразия дикорастущей сои в девяти популяциях Приморского края с использованием RAPD маркеров. Установлено, что уровень генетического разнообразия *G. soja* значительно выше, чем у *G. max*. На основании RAPD анализа филогенетических взаимоотношений внутри рода *Glycine* подрода *Soja* мы подтверждаем обоснованность выделения *G. gracilis* в ранг вида.*

© А.В. НЕДОЛУЖКО, Д.Б. ДОРОХОВ, 2007

Введение. Генетически модифицированная соя, устойчивая к гербициду, оказалась одним из самых востребованных трансгенных растений для фермеров. В первую очередь это связано с особенностью ее агротехники, которая обеспечивает большую прибыль фермерам и носит природоохранный характер. На засоренных сорняками полях прибавка урожайности достигает 40 %, уменьшается количество вносимого гербицида и энергозатраты на культивирование почвы, существенно уменьшаются потери воды. В прошлом году устойчивая к гербицидам соя по-прежнему оставалась доминирующей трансгенной культурой, выращиваемой для промышленного применения в США, Аргентине, Бразилии, Канаде, Мексике, Румынии, Уругвае и Южной Африке.

В общей концепции испытаний на биобезопасность генетически модифицированных растений уделяется особое внимание исследованию генетической структуры популяций дикорастущих родичей трансгенных растений в центрах их видообразования и разнообразия, а также их гибридизационной способности с дикорастущими родичами. Одним из примеров таких исследований является изучение дикорастущей сои на территории Дальнего Востока Российской Федерации.

Дальневосточный регион — один из основных районов возделывания сои (*Glycine max* (L.) Merr.) в Российской Федерации (рис. 1). В то же время этот регион является и местом произрастания дикорастущей сои (*G. soja* Sieb. & Zucc.) в генетическом центре происхождения этого вида (рис. 2). Решая вопрос о биобезопасности выпуска в окружающую среду устойчивых к гербициду трансгенных растений сои, предстояло оценить потенциальные риски передачи признака устойчивости к гербициду в популяцию дикорастущей сои Дальневосточного региона. Для этих целей необходимо было оценить генетическую структуру популяции дикорастущей сои и выяснить, исходя из геоботанических описаний растений в этом регионе, является ли дикорастущая соя сорняком и сможет ли стать им в будущем, если получит признак устойчивости к гербициду. Особо следует отметить, что использование трансгенных растений культурной сои, устойчивых к гербициду глифосату, в качестве модели позволило провести более точную оценку возможности естественного переопыления между

дикорастущим и культурным видами сои, поскольку предоставляет возможность более точно идентифицировать возможные межвидовые гибриды, когда опылителем выступает культурная соя. Проведение таких экспериментов по межвидовому скрещиванию также позволило прогнозировать потенциальные риски передачи свойства устойчивости к гербициду в популяцию дикорастущей сои.

Ареал дикорастущей сои расположен в Восточной Азии и охватывает большую часть Китая, Тайвань, Корею, Японию, юг Дальнего Востока России (Амурская область, Приморский и Хабаровский края) [1–7].

Основным районом возделывания культурной сои в России является юг Дальневосточного региона. Площади, занятые культурной соей, находятся в пределах естественного ареала дикорастущей сои. В связи с этим особое значение представляет исследование взаимоотношений между этими видами в местах их совместного произрастания. Наиболее часто на российском Дальнем Востоке популяции дикорастущей сои встречаются вблизи оз. Ханка. На северо-западе ареала, в Нижне-Зейском и Буреинском районах Амурской области, она более редка. На юге Приморского края соя отмечена на островах залива Петра Великого [8–10].

В пределах своего географического ареала дикорастущая соя не встречается повсеместно, характерные места обитания этого вида — долины рек, ивняки, речные островки, берега проток и стариц, луга, заросли кустарников, обочины дорог, заброшенные поля, иногда склоны осыпей [11, 12].

Проведенные ранее геоботанические исследования позволили выделить четыре типа сообществ, в которых встречается *G. soja* [8].

Первая группа сообществ — это пионерные фитоценозы. Такие сообщества развиваются по молодым поймам, на песчано-галечных косах, а также на антропогенных грунтах. Это откосы новых и обновляемых дорог, осыпи, карьеры, а также кюветы с временными водотоками. Наиболее характерное отличие таких фитоценозов — преобладание сорных видов, более половины которых являются одно- и двулетними сорняками.

Вторая группа сообществ занимает водоразделы и террасы. Для сообществ этой группы так же, как и первой, характерна пионерность,



Рис. 1. Распространение дикорастущей сои (*G. soja*) на территории Российской Федерации



Рис. 2. Регионы России с наибольшими площадями высеваемой культурной сои (*G. max*)

однако уже вторичная. Фитоценозы второй группы сообществ развиваются на месте уничтоженной или сильно нарушенной естественной растительности. Это пустыри, свалки, заброшенные поля и огороды, полосы вдоль дорог (откосы и кюветы). Сорных трав по сравнению с сообществами первой группы также много, но число одно- и двулетних сорняков невелико. Жизненность дикорастущей сои в сообществах второй группы высокая, но доля ее участия снижается, так как возрастает конкуренция между видами.

Сообщества третьей группы занимают поймы рек и низины водоразделов с временными водотоками. Количество видов сорных растений в этих сообществах значительно ниже, чем в сообществах первого и второго типов, их развитию препятствует густой травостой и задернение почвы. Дикорастущая соя в луговых сообществах встречается редко. При антропогенных нарушениях ее проективное покрытие может увеличиваться. Если же травостой луга совсем не нарушен, соя совершенно исчезает или сильно угнетена и малозаметна.

Таблица 1

Объем и источники материала дикорастущей и культурной сои

Вид	Места сбора материала	Маркировка на карте-схеме	Количество генотипов
<i>Glycine soja</i> (коллекция Центра «Биоинженерия» РАН)	Кировский район, с. Афанасьевка	1	18
	Кировский район, с. Комаровка	2	10
	Кировский район, «Кировский совхоз»	3	33
	Черниговский район, с. Дмитриевка, «Дмитриевский совхоз»	4	8
	Ханкайский район, с. Платоновка	5	11
	Ханкайский район, пос. Камень-Рыболов	6	12
	Ханкайский район, пос. Турий Рог	7	8
	Ханкайский район, Турий Рог, пограничный переход «Россия—Китай»	8	5
	Ханкайский район, окрестности пос. Камень-Рыболов	9	20
<i>Glycine max</i> (коллекция Центра «Биоинженерия» РАН)	Краснодар		10
	Краснодар		6
	Приморский край		5

Четвертая группа сообществ — малонарушенные травяные сообщества водоразделов, встречаются только в Приморском крае. Г.Э. Куренцова на Приханкайской равнине отмечает дикую сою только для приречных группировок. В Амурской области на сходных местах обитания она, видимо, не выходит. Сообщества этой группы испытывают слабое антропогенное влияние. Количество малолетников — минимальное. Соя встречается редко.

Отмечено, что *G. soja* предпочитает антропогенные открытые фитоценозы [8].

Одним из ключевых вопросов в оценке биобезопасности «нового» ГМ-растения является вопрос об увеличении его инвазивного потенциала по сравнению с исходным растением и/или передача повышенного инвазивного потенциала дикорастущим родичам.

Как у традиционной сои, так и у ГМ-соей, устойчивой к гербициду, инвазивный потенциал практически равен нулю. Однако существует потенциальный риск вертикальной передачи признака устойчивости к гербициду от ГМ-соей к ее дикорастущим родичам. В связи с этим необходимо было оценить собственный инвазивный потенциал дикорастущей сои, возможность этого вида сорничать.

В настоящее время считается, что *G. soja* не сеgetальный (полевой или пашенный), а рудеральный (мусорный или пустынный) сорняк. Этот вид произрастает в нарушенных фитоценозах, на пустырях, залежах, по откосам дорог, т.е. там, где почва не подвергается перепахиванию. Хорошо известно, что полевые сорняки, прежде всего, должны выдерживать постоянную обработку почвы [8]. Таким образом, дикорастущая соя никогда не встречается на полях с выращиваемой там культурной соей.

Биологические особенности дикорастущей сои не позволяют ей стать значимым сорняком. Ее вегетационный период достаточно длинный — 4—4,5 месяцев [11]. Плодоношение — один раз за сезон, созревание семян — во второй половине сентября. На одном растении образуется 100—250 семян, что немного по сравнению с десятками тысяч семян, которые производят злостные сорняки. *G. soja* никогда не образует сплошных зарослей, у нее нет специальных приспособлений для эффективного распространения семян на большие расстояния. Следует отметить наличие баллистических способностей у бобов сои, благодаря резкому закручиванию которых в противоположные стороны семена разбрасываются на 1—3 м от материнского растения. Распространение сои, встречающейся по долинам рек, происходит, очевидно, с токами воды. Существенную роль в ее распространении могут играть грызуны [12]. Таким образом, было показано, что *G. soja* не обладает значительным инвазивным потенциалом, и от ГМ-соей, гипотетически, только в результате интрогрессивной гибридизации могут быть переданы гены, которые потенциально могут увеличить инвазивность дикорастущей сои. Однако в случае передачи признака устойчивости к гербициду в популяцию дикорастущей сои не произойдет значимого увеличения инвазивного потенциала таких

межвидовых гибридов. Это связано с тем, что дикорастущая соя не произрастает в местах массового использования гербицида, а в отсутствие обработок гербицидов трансгенная вставка, содержащая ген, который обуславливает устойчивость к гербициду, довольно быстро может удаляться из генома межвидового гибрида. В гипотетическом случае закрепления признака устойчивости к гербициду у отдельных генотипов дикорастущей сои это может довольно эффективно регистрироваться в процессе мониторинга с последующим уничтожением таких растений и использованием альтернативного гербицида.

Работы по изучению ауткроссинга сои ведутся сравнительно давно. При получении межвидовых гибридов экспериментальная скрещиваемость между сортами культурной сои и дикорастущими образцами варьировала от 1,8 до 11,1 %. Сравнение прямых и обратных скрещиваний сортов сои с дикорастущими образцами пока-



Рис. 3. Места сбора материала в Приморском крае (нумерация локалитетов соответствует тексту и таблице). ■ — места сбора материала во время экспедиций 2004 г., ● — места сбора материала во время экспедиций 2005 г.

Таблица 2

Происхождение и маркировка использованного материала

Вид	Маркировка смесей	Места сбора материала	Маркировка на карте-схеме	Маркировка на иллюстрациях
<i>G. soja</i> (коллекция Центра «Биоинженерия» РАН)	КР-3-01-04	Кировский район, с. Афанасьевка	1	AFAN
	1/21	Амурская область	—	AMUR
	ХР-02-10-05	Хасанский район, пос. Краскино	15	HASN
	ВС-01-09-05	г. Владивосток	13	VLAD
	ПАРТ-01-09-05	Шкотовский район, пос. Шкотово	12	PART
	НРС-01-09-05	Надеждинский район, пос. Ключевое	11	NADZ
	77/5	г. Спасск-Дальний	10	SPSK
	ВС-06-09-05	о. Русский	14	RUSS
	КР-6-01-04	Черниговский район, с. Дмитриевка	4	DMTR
	КР-11-01-04	Ханкайский район, пос. Турий Рог	7	TURG
<i>G. gracilis</i> (коллекция ВНИИР им. Н.И. Вавилова)	Кат. 3980 var. nigrans			GR01
	Кат. 569 var. involutans			GR02
	Кат. 5683			GR03
	Кат. 4860 var. nana			GR04
	Кат. 85 var. involutans			GR05
	Кат. 521 var. Gracilis			GR06
<i>G. max</i> (коллекция Центра «Биоинженерия» РАН)	Сорт Венера			VENR
	Сорт Дуар			DUAR
	Сорт StineRR			STRR
Межвидовые гибриды	Интр. кат. 609056 сорт Березина × дикорастущая соя			HIB1
	Потомство F ₂ гибрида дикорастущая соя × сорт StineRR			HIB2

Использованные праймеры и условия реакции амплификации

Праймер	Последовательность праймера 5'→3'	Программа реакции амплификации
ORA-08	GTGACGTAGG	Преденатурация 3 мин — 94 °С; далее 20 циклов: 5 с — 94 °С, 30 с — 55 °С (в каждом новом цикле температура увеличивается на 1 °С), 30 с — 72 °С; далее 20 циклов: 5 с — 94 °С, 30 с — 35 °С, 5 с — 72 °С; досинтез — 7 мин — 72 °С
ORA-09	GGGTAACGCC	
ORA-04	AATCGGGCTG	
ORN-12	ACGCGCATGT	
ORK-14	CCCGCTACAC	
OPG-11	TGCCCCGTCGT	Преденатурация 4 мин — 94 °С; далее 38 циклов: денатурация 1 мин — 94 °С; 1 мин — 35 °С; 2 мин — 72 °С; досинтез — 7 мин — 72 °С

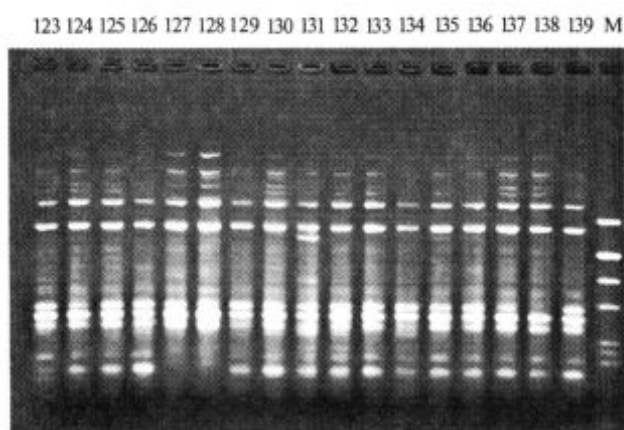


Рис. 4. Пример результатов амплификации праймером ORA-04

зало, что при прямых скрещиваниях успешность гибридизации была выше, т.е. при опылении дикорастущей сои пыльцой возделываемых сортов завязываемость наименьшая [13]. Одной из первых работ, где была оценена биобезопасность генетически модифицированной сои в природных условиях, является работа Manabe [14]. Тщательный анализ позволил авторам с уверенностью констатировать отсутствие гибридных растений в потомстве у *G. soja*, растущей на поле рядом с генетически модифицированной.

Попытка выявления потенциальной возможности перекрестного опыления растений дикорастущей и культурной сои была предпринята Nakayama et al. [15]. Доля гибридных растений F₁ составила 0,73 %. Однако некоторые японские

авторы отмечают, что процент ауткроссинга гораздо выше и варьирует от 2,4 до 19 % [16]. Авторы рассматривают гибридизацию двух видов сои как процесс, приводящий к «генетической эрозии» дикорастущей сои, и важную роль в перекрестном опылении растений придают насекомым-опылителям, в частности, шмелям. Однако следует специально отметить, что в этих работах заключение о проценте ауткроссинга *G. max* делается не на основании прямых экспериментов по гибридизации ГМ-сое с дикорастущим родичем, а на основании оценки частоты встречаемости в японской популяции *G. soja* микросателлитных локусов ДНК, характерных в большей степени для сортов культивируемой сои.

Во время эксперимента, проведенного нами в условиях Краснодарского края России, было установлено, что вероятность получения гибридных растений при спонтанном переносе пыльцы от культурной к дикорастущей сое составляет менее 0,28 % [17]. При искусственном опылении процент гибридных растений составил 4,1 [18], при проведении работ по скрещиванию в теплице — 3,7. Таким образом, было подтверждено, что вероятность возникновения плодовых гибридов, отцовским компонентом которых является культурная соя, минимальна. Это позволило нам продолжить исследования по изучению спонтанной гибридизации в центре происхождения и разнообразия *G. soja* на территории Приморского края России, с его особенными климатическими условиями и видовым составом насекомых-опылителей.

Косвенным подтверждением возможного существования генетически устойчивых межвидовых гибридов является вид *G. gracilis*, хотя существуют и другие точки зрения на происхождение этого вида, например, дедоместикация стародавних сортов или же происхождение *G. soja*, *G. gracilis* и *G. max* от одного общего предка.

Учитывая разноречивые точки зрения на таксономическое положение и филогению *G. gracilis* и в связи с исследованием вопросов биобезопасности ГМ-соей, нами представлялось необходимым провести анализ филогенетических отношений в роде *Glycine* и прояснить статус *G. gracilis*.

При изучении потенциальной возможности передачи генетических конструкций от культурных ГМ-растений к их дикорастущим родичам необходимо установить размах генетической изменчивости в популяциях дикорастущих видов. Необходимо исследовать возможность существования корреляции между эффективностью межвидовой гибридизации и географической локализацией конкретных генотипов дикорастущих родичей. Ранее проведенный анализ генетического разнообразия дикорастущей сои, распространенной на юге Дальнего Востока России [19], показал, что уровень полиморфизма RAPD-локусов у растений дикорастущей сои значительно выше, чем у культурной. Отмечена устойчивая группировка образцов сои по географическому принципу. Выявлено, что изолированные популяции в северной части ареала (Амурская область) менее полиморфны в сравнении с аналогичными популяциями в южной ее части.

В связи с тем, что морфологическая изменчивость популяции дикорастущей сои в окрестностях оз. Ханка наибольшая на территории Дальнего Востока России, возникло предположение, что образцы, произрастающие в этой местности, обладают генетическим полиморфизмом, представляющим большинство возможных генетических вариантов, которые характерны для исследуемой территории. Это послужило причиной выбора Приханкайской равнины в качестве модельной территории для более детального изучения генетического полиморфизма популяции дикорастущей сои в окрестностях оз. Ханка.

Материалы и методы. Для оценки генетической структуры популяций *G. soja* использовали

материал (125 образцов), собранный сотрудниками Центра «Биоинженерия» РАН в период экспедиционных работ в окрестностях оз. Ханка Приморского края — природного ареала дикорастущей сои (табл. 1). В качестве «внешней группы» использовали образцы культурной сои (21 генотип).

Для исследования филогенетических взаимоотношений в роде *Glycine* подроде *Soja* нами был использован семенной материал национальной коллекции ВНИИР им. Н.И. Вавилова и образцы, собранные сотрудниками Центра «Биоинженерия» РАН в период экспедиционных работ в 2003—2005 гг. (табл. 2 и рис. 3).

Гибридные семена, полученные от скрещивания культурной и дикорастущей сои, любезно предоставлены сотрудниками ВНИИР им. Н.И. Вавилова РАСХН и Института цитологии и генетики СО РАН [18].

Семена проращивали в чашках Петри и выращивали в теплице при дневной температуре 21 °С, ночной — 18 °С, влажность 40 %, длина светового дня 15 ч. ДНК выделяли из трехлопастных листьев проростков на стадии V3, как нами было описано ранее [18]. Эквимолярные смеси создавали из индивидуальных препаратов ДНК из расчета 5 генотипов на одну смесь. Всего было создано 30 смесей. Для реакции амплификации ДНК использовали амплификатор марки Applied Biosystems GeneAmp PCR System 2700 и следующие праймеры: ОРА-04, ОРА-08, ОРА-09, ОРК-14, ОРГ-11, ОРН-02, ОРН-12, ОРО-01, ОРО-05, ОРХ-05 (табл. 3).

Результаты исследований. Изучение генетического разнообразия дикорастущей сои на территории Приханкайской равнины Приморского края. По результатам электрофореза продуктов амплификации (рис. 4) были построены бинарные матрицы (по наличию или отсутствию признака) на 147 проб для каждого праймера и объединены в одну общую матрицу. Признаком (1) считалась каждая яркая полоса ДНК на геле. Ампликоны, неясно различимые на геле, не учитывались. Отсутствие признака обозначалось как «0». По полученным данным было выявлен полиморфизм как между отдельными генотипами, так и между популяциями. Наибольшая дискриминационная способность выявлена у праймера ОРА-08. Число амплифицированных фрагментов варь-

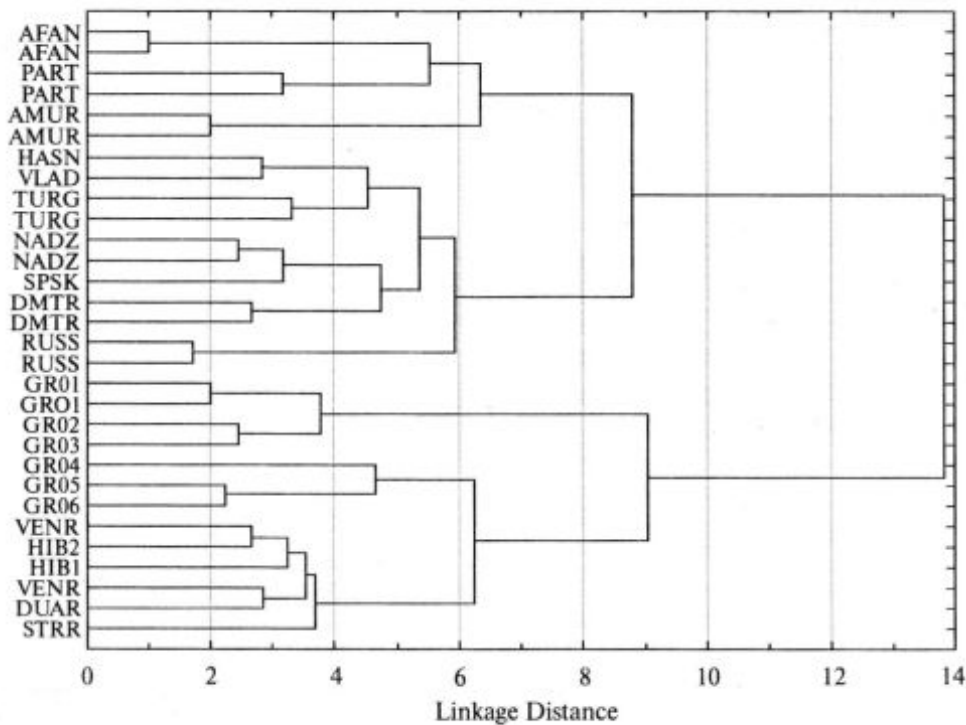


Рис. 5. Дендрограмма по евклидовым расстояниям для видов *G. max*, *G. soja*, *G. gracilis*, метод Ward

ировало в пределах от 12 до 29 для всей выборки.

При оценке генетического разнообразия использовали такие параметры (табл. 4): *P* — доля полиморфных локусов без критерия значимости; *He* — ожидаемая гетерозиготность; *Npl* — количество полиморфных локусов.

Одной из мер генетической изменчивости служит доля полиморфных локусов или просто полиморфность [20]. Уровень этой вели-

чины для выборки генотипов у дикорастущей сои варьирует от 38,71 (пограничный переход Россия—Китай) до 93,55 % (поля Кировского совхоза). Генотипы, собранные в окрестностях сел Афанасьевка, Комаровка, Платоновка, поселков Камень-Рыболов, Турий Рог и Дмитриевского совхоза, по этому показателю занимают промежуточное положение: величина полиморфности варьирует здесь от 48,39 до 79,03 %. Для всей выборки значение полиморфности составляет 98,39 %. Полиморфность культурной сои (*G. max*) значительно ниже, чем у ее дикого родича, и находится в пределах от 35,48 до 61,29 %.

В большинстве работ по изучению генетической изменчивости популяций отдается предпочтение определению гетерозиготности [20], однако следует отметить, что при использовании метода RAPD наблюдаемая гетерозиготность не может быть определена точно в связи с доминантным характером RAPD-локусов и невозможностью различить доминантные гомозиготы и гетерозиготы. В обследованной популяции значения ожидаемой гетерозиготности варьируют в пределах от 14,61 (пограничный переход Россия—Китай) до 27,80 % («Кировский совхоз»).

Таблица 4

Параметры внутривидовой изменчивости

Популяция	<i>He</i>	<i>P</i> , %	<i>Npl</i>
с. Афанасьевка	24,94	74,19	46
с. Комаровка	24,24	72,58	45
«Кировский совхоз»	27,80	93,55	58
с. Дмитриевка	23,11	67,74	42
с. Платоновка	25,64	77,42	48
пос. Турий Рог	24,45	70,97	44
пос. Камень-Рыболов	27,29	79,03	49
Пограничный переход Россия—Китай	14,61	38,71	24
Окрестности пос. Камень-Рыболов	15,05	48,39	30

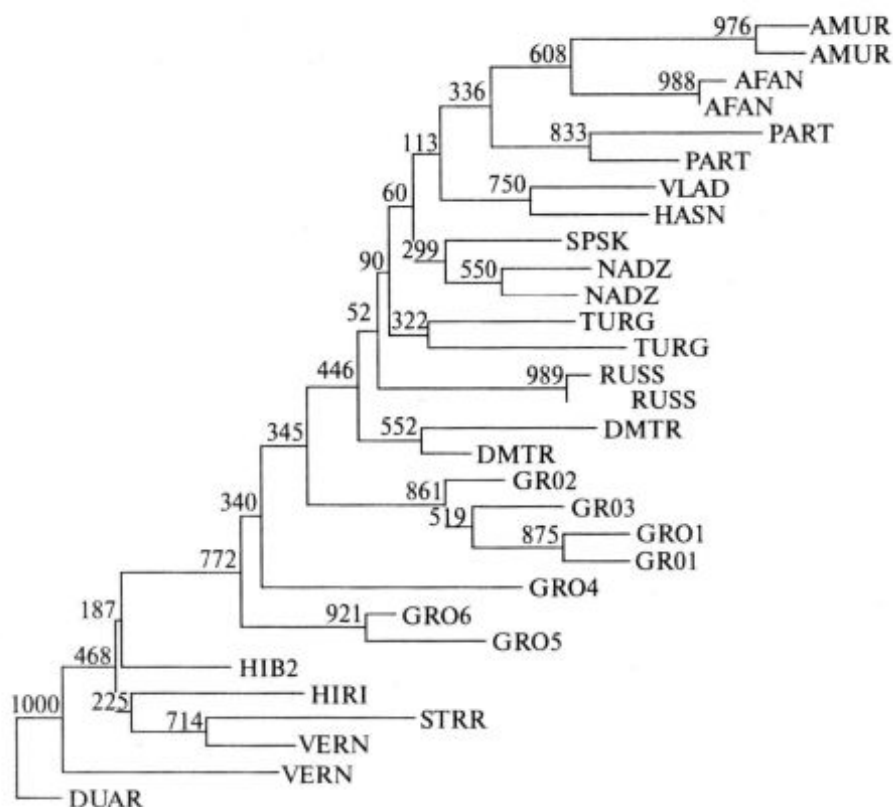


Рис. 6. Филогенетическое древо для видов *G. max*, *G. soja*, *G. gracilis*, метод Neighbor-Joining

Показатели гетерозиготности в остальных пунктах изменяются от 23,11 до 27,80. При сравнении западного и восточного побережий оз. Ханка выяснилось, что особи западного побережья обладают сравнительно большей гетерозиготностью — 32,82, в то время как для объединенной выборки противоположного берега эта величина составляет 27,65 (табл. 4).

Молекулярно-генетический анализ филогенетических взаимоотношений видов *G. soja*, *G. gracilis* и *G. max*. По результатам анализа электрофореза продуктов амплификации ДНК была построена бинарная матрица на основании наличия-отсутствия фрагмента ДНК-ампликона. Всего было выявлено 89 ампликонов, из которых 70 были полиморфными. Исходную бинарную матрицу обработали при помощи статистических программ Statistica 6.0 и Treescop, были получены три дендрограммы (Ward, UPGMA и Neighbor-Joining). Используемые нами три метода позволили дискриминировать виды *G. max*, *G. gracilis* и *G. soja*. Так, на дендрограммах, построенных методами Ward'a (рис. 5) и UPGMA, эти виды обра-

зуют отдельные подкластеры. Стоит отметить, что *G. max* и *G. gracilis* ближе друг к другу, чем к *G. soja*. Метод Neighbor-Joining (рис. 6) не выявил столь четкой кластеризации, как два предыдущих. Более того, генотипы *G. soja* и *G. gracilis* образуют один большой кластер, отдельный от *G. max*, которая взята в качестве внешней группы. Несмотря на то, что видимая достоверность топологии ветвления дендрограммы невелика, поскольку bootstrap-значения не всегда значимы (это может быть связано с тем, что генотипы достаточно близки друг другу), *G. gracilis* во всех случаях занимает промежуточное положение между *G. soja* и *G. max*, а межвидовые гибриды сои кластеризуются вместе с культурной соей. В связи с этим мы считаем, что необходимо дальнейшее изучение межвидовых гибридов *G. soja* и *G. max*, что позволит проверить гипотезу о гибридном происхождении *G. gracilis*.

Мономорфные фрагменты амплифицированной ДНК могут быть одним из критериев для дискриминации видов. В связи с этим Chen et al. [21] провели специальные исследо-

вания и обнаружили мономорфные фрагменты амплифицированной ДНК, которые использовали для дискриминации трех видов сои.

Мы использовали протоколы Chen et al. [14] для дискриминации видов сои в наших исследованиях, однако большинство фрагментов амплифицированной ДНК, описанных авторами, в исследованных образцах обнаружить не удалось. Возможно, это было связано с тем, что в исследования были вовлечены образцы сои различного происхождения с разной представленностью исследуемых ампликонов. Только праймер ОРХ-05 позволил выделить фрагмент, характерный исключительно для *G. soja*. Этот фрагмент встречается в 10 из 17 исследованных популяций.

Дополнительные исследования позволили нам выявить фрагмент, присущий только *G. max* и ее межвидовым гибридам. Частота его встречаемости составляет 100 % в исследованных генотипах, у *G. soja* и *G. gracilis* этот фрагмент не встречался.

Изучение естественной потенциальной гибридизационной способности культурной и дикорастущей сои в Дальневосточном регионе России. В настоящее время продолжаются работы по изучению естественной потенциальной гибридизационной способности культурной и дикорастущей сои в Дальневосточном регионе России. На протяжении двух последних лет проводятся совместные экспедиции сотрудников Центра «Биоинженерия» РАН и сотрудников Дальневосточного научно-исследовательского института защиты растений РАСХН. Целью этих экспедиций является детальное обследование популяций дикорастущей сои на территориях, прилегающих к оз. Ханка, и популяций, сосредоточенных на границах сельскохозяйственных посадок культурной сои. Особое внимание уделяется популяциям, произрастающим вблизи полей, где не проводился севооборот культурной сои уже несколько лет. Анализ морфологических признаков в течение двух полевых сезонов не позволил выявить межвидовые гибриды, что также свидетельствует о стабильности популяций дикорастущей сои в соседстве с агроценозами культурной сои. Продолжаются исследования факторов, которые могут влиять на процесс межвидовой гибридизации между культурной соей и ее ди-

корастущим родичем, когда донором пыльцы выступает культурная соя. Ведется наблюдение за потенциальными насекомыми-опылителями, регистрируется синхронность цветения культурной и дикорастущей сои, ведется учет доли цветков открытого типа, осуществляется мониторинг возможности вертикального переноса признака устойчивости к гербициду в экспериментальные популяции дикорастущей сои. Все эксперименты проводятся на специальных участках, обеспечивающих изоляцию ГМ-сое от естественных популяций дикорастущей сои и коммерческих посевов культурных сортов сои.

Выводы. Молекулярные исследования генетического полиморфизма популяции дикорастущей сои на территории Приханкайской равнины не выявили четкой географически зависимой дифференциации между отдельными образцами, так же как не выявили локусов, характерных для какого-либо конкретного места произрастания. В целом, уровень генетического полиморфизма растений дикорастущей сои на этой территории достаточно высок и сопоставим со всей территорией Дальнего Востока РФ. Поскольку популяция дикорастущей сои Приханкайской равнины обладает высоким генетическим полиморфизмом, ее можно использовать в качестве модельной популяции для исследования потенциальной возможности спонтанной гибридизации между культурными и дикорастущими видами сои. Полученные нами данные подтверждают обоснованность выделения *G. gracilis* в ранг вида.

SUMMARY. Wild soybean (*Glycine soja* Sieb. & Zucc.) is the nearest relative of a soybean crop (*Glycine max* (L.) Merr.). Study of population genetic structure of wild-growing relatives of genetically modified (GM) plants in the centers of their origin is one of the main procedures before introduction of GM crops in these areas. We have studied genetic variability of nine wild growing soya populations of Primorye Territory using RAPD analysis. The level of *G. soja* genetic variability was considerably higher than that of *G. max*. We have analyzed phylogenetic relationships in the genus *Glycine* subgenus *Soja* using RAPD markers. Our data confirm validity of allocation *G. gracilis* in a rank of a species.

РЕЗЮМЕ. Дикоросла соя (*Glycine soja* Sieb. & Zucc.) є найближчим родичем культурної сої (*Glycine max* (L.) Merr.). Дослідження генетичної структури популяцій та генетичної мінливості дикорослих родичів генетично

модифицированных (ГМ) растений у центрах ихнего происхождения є одним з найважливіших етапів перед прийняттям рішення про впровадження ГМ-сортив. З використанням RAPD-маркерів нами проведено аналіз генетичної різноманітності дикорослої сої у дев'яти популяціях Приморського краю. Встановлено, що рівень генетичної різноманітності *G. soja* значно вище, ніж у *G. max*. На підставі RAPD-аналізу філогенетичних взаємовідносин усередині роду *Glycine* підроду *Soja* підтверджуємо обгрунтованість виділення *G. gracilis* в ранг виду.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Consensus document on the biology of *Glycine max* (L.) Merr. (Soybean). Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 15, Organisation for Economic Co-operation and Development, ENV/JM/MONO, 2000 <http://www.oecd.org/ehs/>.
2. Корсаков Н.И. Определение видов и разновидностей сои: Метод указания. — Л.: Изд. ВИР, 1972. — 190 с.
3. Маак Р. Путешествие по долине р. Усури. — С.-Петербург, 1861. — Т. 2. — 344 с.
4. Ульянова Т.Н. Сегетальная флора Приморского края // Бот. журн. — 1978. — 63, № 7. — С. 1004—1016.
5. Сосудистые растения советского Дальнего Востока / Отв. ред. С.С. Харкевич. — Л.: Наука, 1989. — 4. — 378 с.
6. Сорные растения Приморского края / Отв. ред. С.С. Харкевич. — Владивосток: Дальневост. кн. изд-во, 1981. — 253 с.
7. Яковлев И.А., Клейншмит Й. Генетическая дифференциация дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) в Европейской части России на основе RAPD-маркеров // Генетика. — 2002. — 38, № 2. — С. 207—215.
8. Дымина Г.Д., Горовой П.Г., Дейнеко Е.В., Шумный В.К., Сеитова А.М., Игнатов А.Н., Супрунова Т.П., Дорохов Д.Б., Скрябин К.Г., Ала А.Я., Серяпин С.А. Изучение географического распространения, особенностей экологии и генетического разнообразия популяции дикой сои (*Glycine soja* Siebold et Zucc.) на юге российского Дальнего Востока как элемента исследований по биобезопасности генетически модифицированной сои, устойчивой к гербициду, фосфинотрицину. Современные направления борьбы с сорняками с использованием новых классов гербицидов и трансгенных растений, устойчивых к гербицидам // Генетическая инженерия и экология. — М.: 2001. — Т. 2. С. 148—160.
9. Недолужко В.А., Денисов Н.И. Флора сосудистых растений острова Русский. Залив Петра Великого в Японском море // Тр. бот. садов ДВО РАН. — Владивосток: Дальнаука, 2001. — 98 с.
10. Пробатова Н.С., Селедец В.П., Недолужко В.А., Павлова Н.С. Сосудистые растения островов залива Петра Великого в Японском море (Приморский край). — Владивосток: Дальнаука, 1998. — 116 с.
11. Комаров В.Л. Происхождение культурных растений. Изб. соч. — М.; Л.: Изд-во АН СССР. — 1958. — Т. 12. — С. 7—256.
12. Скворцов Б.В. Дикая и культурная соя Восточной Азии // Вестн. Маньчжурии. — 1927. — № 9. — С. 35—43.
13. Singh R.J., Hymowitz T. The genomic relationship between *Glycine max* (L.) Merr. and *G. soja* Sieb. and Zucc. as revealed by pachytene chromosome analysis // Theor. Appl. Genet. — 1988. — 76. — P. 705—711.
14. Manabe T., Kashiwara Y., Yamada S., Harada J., Matsumura T. Environmental safety evaluation of transgenic soybean with glyphosate-tolerance in the environmentally isolated field // Breed. Sci. — 1996. — 46. — P. 261.
15. Nakayama Y., Yamaguchi H. Natural hybridization in wild soybean (*Glycine max* ssp. *Soja*) by pollen flow from cultivated soybean (*Glycine max* ssp. *Max*) in a designed population // Weed Biol. and Manag. — 2002. — 2. — P. 25—30.
16. Kuroda Y., Kaga A., Tomooka N., Vaughan D.A. Population genetic structure of Japanese wild soybean (*Glycine soja*) based on microsatellite variation // Mol. Ecol. — 2006. — 15. — P. 959—974.
17. Dorokhov D., Ignatov A., Deineko E., Serjapin A., Ala A., Skryabin K. Potential for Gene Flow from Herbicide-resistant GM Soybeans to Wild Soya in the Russian Far East // Introgression from Genetically Modified Plants into Wild Relatives / Eds H.C.M.Nijs, D. Bartsch, J. Sweet. — Wallingford: CAB Int., 2004. — P. 151—161.
18. Дейнеко Е.В., Загорская А.А., Шумный В.К., Сеитова А.М., Дорохов Б.Д., Кузнецов Б.Б., Игнатов А.Н., Дорохов Д.Б., Скрябин К.Г. Изучение гибридизационной способности культурной сои *Glycine max* (L.) Merr., устойчивой к гербициду глифосат, с дикой соей *Glycine soja* Siebold et Zucc. из дальневосточного региона России. Современные направления борьбы с сорняками с использованием новых классов гербицидов и трансгенных растений, устойчивых к гербицидам // Генетическая инженерия и экология. — М., 2001. — Т. 2. — С. 160—164.
19. Сеитова А.М., Игнатов А.Н., Супрунова Т.П., Цветков И.Л., Дейнеко Е.В., Дорохов Д.Б., Шумный В.К., Скрябин К.Г. Оценка генетического разнообразия дикорастущей сои (*Glycine soja* Siebold et Zucc.) в Дальневосточном регионе России // Генетика. — 2004. — 40, № 2. — С. 224—231.
20. Айала Ф., Кайгер Дж. Современная генетика: Пер. с англ. — М.: Мир, 1988. — Т. 3. — 335 с.
21. Chen Y., Nelson R.L. Genetic variation and relationships among cultivated, wild and semiwild soybean // Crop Sci. — 2004. — 44. — С. 316—325.
22. Воложенин А.Г. Сорняки и меры борьбы с ними. — Владивосток: Дальневост. кн. изд-во, 1969. — 76 с.

Поступила 14.07.06