Обзоры, проблемы, итоги

УДК 631.52:577.113.5:575.2:51-76:57.087.1

СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ В СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ НА ГЕТЕРОЗИС

(обзор)

Ю.В. ЧЕСНОКОВ, Н.В. КОЧЕРИНА, А.М. АРТЕМЬЕВА

Обсуждается вклад молекулярных маркеров в изучение генетического разнообразия, в том числе заключенного в коллекционных образцах, сохраняемых в генных банках генетических ресурсов растений (ГРР). Показана роль установления взаимоотношения между молекулярной дивергенцией, фенотипической дивергенцией и сопроисхождением образцов ГРР, а также возможность применения молекулярно-генетического анализа для классификации на гетерозисные группы и управления ГРР. На основе статистического анализа и собственных результатов исследований продемонстрирована возможность установления взаимосвязи между молекулярной дивергенцией и гетерозисом и перспективы использования комбинированного молекулярно-генетического и статистического методов анализа. Рассмотренные методические подходы в большинстве своем уже повсеместно используются в различных селекционных программах за рубежом. В России интерес к ним также увеличивается. Среди потенциальных применений молекулярных маркеров следует отметить подбор и идентификацию родительских форм, на основе которых получают новые селекционные популяции, что до сих пор остается ключевым моментом для большинства селекционеров. Применение статистических подходов в дополнение к молекулярно-генетическим позволяет не только упростить и систематизировать подбор родительских пар, но и существенно удешевить саму оценку селекционно значимого материала.

Ключевые слова: генетические ресурсы растений, молекулярные маркеры, статистический анализ, гетерозис, селекция растений.

Среди областей практического применения молекулярных маркеров в селекции растений можно выделить два основных направления. Во-первых, с помощью маркеров можно получить дополнительные сведения о генетическом разнообразии, существующем внутри видов или их структурных комплексов, популяций (1-4). Эта информация особенно важна для системного управления генетическими ресурсами растений (ГРР), так же как для рационального использования ГРР в селекционных программах (3, 5, 6). Во-вторых, маркеры дают возможность построения насыщенных генетических карт, которые, в свою очередь, позволяют идентифицировать и локализовать хромосомные локусы, с экспрессией которых связан количественный или качественный эффект, а также устанавливать степень проявления этого эффекта (7). Такие сведения сами по себе представляют прямой и непосредственный интерес для селекционеров. Самый простой пример тому — использование маркеров генов при интрогрессии желаемых аллелей в реципиентный геном или геномы. В то же время кураторы коллекций генетических ресурсов с помощью молекулярных маркеров могут устанавливать взаимоотношения различных выявляемых полиморфизмов, различия и так называемый коэффициент сопроисхождения, то есть коэффициент вероятности общего происхождения. Исходя из характера таких взаимоотношений, можно предложить ряд подходов для практического применения полученных данных. Кроме того, применение технологии молекулярных маркеров создает перспективы для решения двух селекционных задач, которые так или иначе связаны с созданием гибридов и гибридных сортов: первая задача — классификация материала в предбридинговые гетерозисные группы, вторая — предсказание гибридной силы. Рассмотрению этих вопросов и посвящена настоящая работа.

Вклад изучения разнообразия в практическую се-

лекцию. Некоторые из статистических методических подходов, описанные в предыдущих работах (3, 4, 7-9), могут быть использованы как для анализа генетического разнообразия составляющих или компонентов коллекций ГРР, которые далее мы будем называть образцами, популяциями или инбредными (селекционными) линиями, так и для их непосредственного применения в селекционных программах. В то же время среди методов изучения генетического разнообразия растений определение генетической дистанции всегда представляло собой предмет особого интереса и внимания селекционеров. В этой связи более четверти века тому назад было показано, что если данные интерпретировать, исходя из аллельных вариаций в конкретном локусе, то по аллельным частотам можно установить различные индексы дистанций (10). Тогда дистанция D_{xy} между двумя наиболее часто используемыми в том или ином исследовании популяциями описывается формулой:

$$D_{xy} = \frac{1}{2L}\sum_{l=1}^{L}\sum_{a_l=1}^{n_l}(f_x^{a_l} - f_y^{a_l})^2,$$

где L — число локусов, использованных для вычисления дистанции, n_l — общее число аллелей в локусе l, а $f_x^{a_l}$, $f_y^{a_l}$ — частоты аллеля a_l в локусе l в популяциях соответственно x и y (11).

Также дистанцию можно выразить следующим образом (4):

$$D_{xy} = h_{xy} - \frac{h_x + h_y}{2},$$

где h_x, h_y — показатели разнообразия в популяциях соответственно x и y, h_{xy} — внутрипопуляционное разнообразие (если аллели i и j получены от двух различных популяций x и y). Формулы для определения h приведены нами в другой работе (8), где рассмотрена оценка степени разнообразия на уровне аллелей. В случае чистых линий D_{xy} равно пропорции локусов, для которых линии зафиксировали различные аллели. Если информация не может быть проанализирована в пределах аллельных вариаций (например, при использовании кодировки «наличие/отсутствие полос на электрофореграмме»), то обычно применяются дистанции по M. Nei и W.H. Li (12). Если же в значениях аллельных вариаций для анализа доступна только часть информации, то полезным может оказаться определение взвешенных средних дистанций (13). Точность установления дистанции увеличивается с числом принятых во внимание локусов (табл.).

Точность установления генетических дистанций между двумя линиями как функция числа (N) **использованных для исчисления дистанции локусов** (цит. по 16)

N	D, %				
	0	10	20	30	50
10	0-30,8	0,2-44,5	2,5-55,6	6,6-65,2	18,8-81,2
20	0-16,8	1,2-31,7	5,7-43,6	11,8-54,3	27,2-72,8
30	0-11,5	2,1-26,5	7,7-38,5	14,7-49,4	31,3-68,7
50	0-7,1	3,3-21,8	10,0-33,7	17,8-44,5	35,6-64,4
100	0-3,6	4,9-17,6	12,7-29,2	21,2-40,0	39,9-60,1
200	0-1,8	6,2-15,0	14,7-26,2	23,7-36,9	42,9-57,1

Следует отметить, что доверительные интервалы не симметричны (даже если установленная дистанция равна 50 %). Например, для 10 маркеров реальная дистанция (для всего генома), равная 30,8 %, может привести к нулевому значению установленной дистанции (с вероятностью 2,5 %), вычисляемой как $(1 - 0{,}308)^{10}$, причем таким образом, что доверительный

интервал для нулевой дистанции будет находиться в интервале от 0 до 30,8 %. Для указанного числа маркеров их равномерное расположение на генетической карте (по сравнению со случайным распределением) в целом также повышает точность установления дистанций (14, 15). Кроме того, для увеличения точности определения в расчет может быть принята дистанция между генетическими маркерами на карте. Для этого, как правило, используют соответствующие статистические пособия (14).

На основании генетических дистанций осуществляется классификация материала, интересующего, например, куратора коллекций или селекционера. Таким материалом могут быть линии, образцы, популяции и т.п. На сегодняшний день используют различные алгоритмы определения генетических дистанций. Наиболее часто применяют алгоритм исчисления среднего сцепления (обычно называемый UPGMA — невзвешенный парно-групповой метод), в котором дистанция между двумя группами определяется как средняя дистанция между элементами групп, а также метод J.H. Ward (17), позволяющий минимизировать вариацию внутри формируемых групп. Эти анализы могут быть дополнены другими наглядными подходами установления степени генетической изменчивости, такими как анализ главных компонент или факториальный анализ соответствий.

Взаимоотношения между молекулярной дивергенцией, фенотипической дивергенцией и сопроисхождением. Достоверная корреляция между дистанцией и сопроисхождением обычно отмечается, когда в расчет берется достаточно большое число генетических маркеров (18). Низкие (или короткие) дистанции могут наблюдаться только для высоких уровней сопроисхождения (19). Тем не менее, для схожих степеней сопроисхождения дивергенция между двумя особями, как правило, не одна и та же из-за генетического дрейфа и эффекта отбора. Например, в случае создания рекомбинантных инбредных линий посредством последовательного самоопыления потомства, полученного от скрещивания линий А и Б, некоторые линии получаются ближе к А, чем другие, даже если у всех линий коэффициент сопроисхождения с А один и тот же. Этот факт иллюстрируют результаты работы (20), в которой показано, что у кукурузы вклад родителя в инбредные линии, полученные от него подобным способом, может варьировать между 20 и 80 %. Необходимо отметить, что при получении информации о сопроисхождении генетические маркеры имеют явное преимущество: они позволяют учитывать эффекты дрейфа и селекционного отбора и, как следствие, обеспечивают более аккуратную оценку генетического сходства.

Во многих исследованиях делались попытки установить точные соотношения между индексами дистанций, выявленными с помощью генетических маркеров. Первоначально в таких работах использовали изоферментные маркеры (21), впоследствии стали применять молекулярные маркеры (13, 16, 22-24). В целом при графическом отображении результатов анализа кривые распределения соотношений между двумя типами дистанций, как правило, имеют пикообразную форму (точка—пик—точка). Это означает, что если две особи близки на уровне молекулярных маркеров, то почти всегда они имеют схожий фенотип, тогда как большие дистанции не позволяют делать каких-либо умозаключений ни относительно сходства, ни относительно фенотипического расхождения исследуемых особей. Такие взаимоотношения могут быть объяснены полигенной основой признаков, обычно принимаемых в расчет при оценке и установлении фенотипической дистанции. Если предположить наличие четырех биаллельных локусов с равными эффектами и обозначить благоприятные и не-

благоприятные аллели соответственно + и –, то линии с комбинациями аллелей ++ –– и –– ++ будут иметь один и тот же фенотип, даже различаясь по каждому локусу (детально этот анализ описан J. Burstin и A. Charcosset) (24).

Такие особенности и свойства взаимосвязи между индексами дистанций, установленными на фенотипическом уровне и определенными с помощью молекулярных маркеров, имеют два существенных практических результата (или следствия). Первое следствие состоит в том, что агрономические признаки особи могут быть предсказаны, если на уровне генетических маркеров они подобны таковым у особи с известным фенотипом. Это особенно важно в случае морфологических признаков, для оценки которых требуется длительное время или очень дорогостоящая процедура. Подобного рода прогнозирование может быть сделано эмпирически или формализовано посредством подходящих для этих целей статистических методов (см. ниже). Второе следствие заключается в возможности распознавать, схожи ли по генетическим маркерам две особи или два образца, которые близки фенотипически. Если предположить, что маркерные локусы дают представительный пример (образчик) всего генома, то, скорее всего, особи с высокой симилярностью на уровне маркеров несут схожие аллели основных QTL (quantitative trait loci), в то время как особи с высокой дивергенцией одних и тех же молекулярных маркеров содержат различные аллели. Это особенно важно для осуществления длительного сохранения и практического использования генетических ресурсов. Например, образцы, которые схожи как фенотипически, так и на уровне молекулярных маркеров, можно отнести к излишним (или резервным, дублетным) и вследствие этого некоторые из них либо удалить из коллекции, либо объединить (для упрощения и удешевления сохранения). В то же время образцы, которые схожи на фенотипическом уровне, но различаются по молекулярным маркерам, могут быть определены как оригинальные.

Применение методов классификации: гетерозисные группы и управление генетическими ресурсами. Первые эксперименты по созданию гибридных сортов кукурузы выявили существование корреляционных взаимоотношений между проявлением свойств гибридов и происхождением их родительских линий (биологические особенности исходных популяций и ареал культуры). Так, было обнаружено, что от скрещивания между генетически родственными линиями (по родословной) обычно образуются гибриды, которые менее продуктивны, чем полученные от неродственных родителей (25, 26). Более того, при гибридной селекции отдельные пары из некоторых популяций проявляют комплементарность. Обычно в этом случае хорошие гибриды дают линии, полученные из одной популяции, если их скрещивают с линиями не из той же, а из другой популяции (26). Как правило, именно на основе таких эмпирических результатов селекционеры определяют необходимые пребридинговые гетерозисные группы, включающие линии с сопоставимым эффектом скрещивания и часто с общим происхождением (например, традиционные сорта-популяции со свободным типом опыления). Подобным образом были созданы группы Lancaster и Reid Yellow Dent, широко используемые в США.

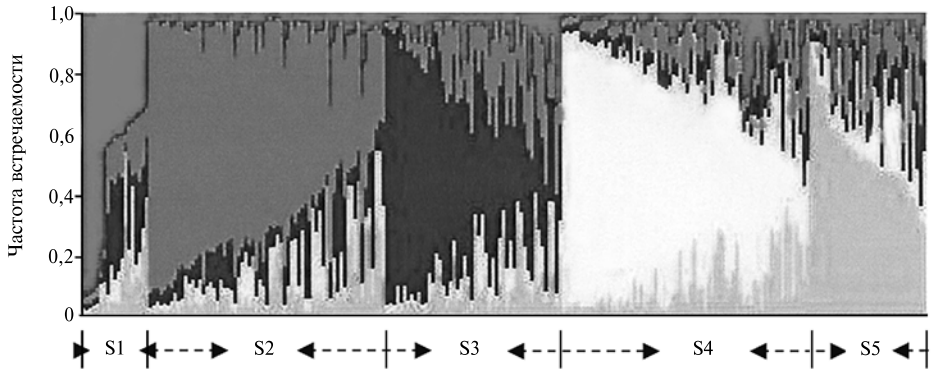
Некоторые авторы изучали репрезентативные наборы линий пребридинговых гетерозисных групп посредством генетических маркеров, при этом статистический анализ полученных результатов проводился с помощью методов, описанных ранее (иерархическая классификация на основе установления молекулярных дистанций или факториальный анализ) (4, 8).

Во всех исследованиях, проведенных на кукурузе, классификация групп, определенная на основе молекулярной информации, согласовывалась с традиционной классификацией пребридинговых гетерозисных групп (27-33). Такие же результаты были получены на подсолнечнике (34, 35). Работа французских ученых, выполненная на кукурузе (33), проиллюстрировала дивергенцию между американскими и европейскими кремнистыми линиями этой культуры. Различия, выявленные между группами, отражали их расхождение по частоте аллелей для серии локусов. Результаты P. Dubreuil с соавт. (33) приводят к двум главным заключениям, важным для практической селекции. Во-первых, если имеются гетерозисные группы, хорошо идентифицированные на основе большого числа эмпирических исследований, то генетические маркеры могут быть использованы для установления филогенетического происхождения генетического материала ГРР (линии, образца, популяции) с неясным генезисом, а также его таксономического, генетического и иного положения по отношению к этим группам. Как правило, порядка 60 мультиаллельных локусов вполне достаточно для получения ответа на подобного рода вопрос, который периодически возникает у любого исследователя, имеющего дело с исходным селекционным материалом и не только (33). Такое подразделение пребридинговых групп значительно облегчает выбор тестеров, которые должны быть скрещены с изучаемым материалом с целью установления его комбинационной способности. Во-вторых, если внутри разновидностей, интересующих экспериментатора, нет идентифицированных гетерозисных групп, а также в случае с вновь отобранными для работы генотипами или генотипами, у которых гибрид был получен недавно, анализ с помощью генетических маркеров может помочь установить структуру изучаемой популяции в историко-селекционном аспекте ее формирования, что, например, иллюстрируют результаты по луку (36). В этом случае на следующем этапе необходимо оценить, какие пары групп в наибольшей мере подходят для создания гибридов с высокими агрономическими и/или хозяйственно ценными качествами.

Даже если перед исследователем не стоит задача установить пребридинговые гетерозисные группы, анализ структуры генетического разнообразия ГРР и определение совокупностей внутри видов или популяций может оказаться очень полезным для рационального управления генетическими ресурсами и их использования в селекции (37-39). В частности, на основе выработанной классификации и ее практического приложения может быть составлен так называемый «общий пул» (посредством перекрестного опыления отобранных особей одной группы). Подобные пулы представляют интерес для реализации пребридинговых программ по увеличению частоты и расширению спектра генотипической изменчивости, что крайне важно при создании сортов (40). Применение классификаций также может рассматриваться как один из ключевых принципов отбора при формировании стержневых коллекций (англ. core collections), которые служат репрезентативной выборкой генетического разнообразия всей коллекции (41). Стержневую коллекцию можно создать, например, посредством отбора определенного числа образцов в каждой из группы, образовавшихся в процессе классификации. Для формирования таких коллекций были предложены и другие подходы, например оптимизация этой процедуры на основе применения повторяющегося (или так называемого интерактивного) отбора (42, 43). Как известно, стержневые коллекции полезны при управлении генетическими ресурсами растений. В частности, они упрощают обмены между программами и странами и могут быть использованы

для вычленения отдельных особей из больших по объему коллекций, в которых собраны образцы со специфичными признаками (например, с устойчивостью к заболеваниям).

В наших исследованиях при построении объединенной стержневой коллекции Всероссийского НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (ВИР) и Университета Вагенингена (WUR) (Нидерланды) для полиморфного вида *Brassica rapa* L. был использован принцип поиска ассоциаций (44, 45). Для выявления ассоциаций между молекулярными маркерами и признаками в естественных гетерозиготных и гетерогенных популяциях растений из двух стержневых коллекций, представляющих вид *B. rapa*, генетическое разнообразие, выраженное через аллельный полиморфизм набора SSR-маркеров, соотносили с наблюдаемым фенотипическим варьированием признаков листа и стручка, архитектоникой растений, временем цветения. Фенотипические и генотипические вариации у основных групп культур оказались сравнимы для обеих коллекций. При генотипировании обнаружили 86 полиморфных SSR-маркеров и *BrFLC1*-специфичный CAPS-маркер, которые использовали для анализа структуры популяции; число аллелей на маркер варьировало от 2 до 16. При анализе популяционной структуры была использована модель, согласно которой допускается смешанное (гибридное) происхождение генотипов, а частота каждого аллеля в подгруппе не зависит от частоты других аллелей. Аллельное разнообразие, выраженное общим числом аллелей в каждой культуре/группе культур (пекинская капуста, китайская капуста, японские овощные культуры, корнеплодная репа, брокколетто, озимая и яровая сурепица, китайские масличные), оказалось сходным в двух коллекциях. Фенотипическое варьирование внутри подвидов между двумя коллекциями также мало различалось, следовательно, в обеих коллекциях были хорошо представлены разные морфологические типы (45).



Структура объединенной стержневой коллекции полиморфного вида *Brassica rapa* L. Всероссийского НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (ВИР) **и Университета Вагенингена** (WUR, Нидерланды) **по частоте 88 полиморфных маркеров:** S1 — 19 образцов яровых масличных из WUR; S2 — 67 образцов пекинской капусты из обеих коллекций; S3 — 50 образцов (главным образом, китайская капуста) из обеих коллекций, по два образца пекинской капусты, китайских масличных и три образца японских листовых овощных; S4 — 70 образцов (европейские репы из обеих коллекций, брокколетто, несколько масличных типов, а также китайские и индийские масличные из коллекции ВИР); S5 — 33 образца (главным образом, масличные типы из коллекции ВИР, а также масличные из Пакистана и японская репа).

Анализ популяционной структуры показал наличие в объединенной коллекции пяти подгрупп — S1-S5 (рис.). Масличные культуры из коллекции ВИР образовали в ней отдельную, очень разнообразную группу, не представленную в коллекции WUR, послужив ценным дополнением последней (44). В то же время среди образцов из коллекции ВИР отсутст-

вовали брокколетто и японская репа. Следует также отметить, что в сформированной коллекции структурные подгруппы оказались многочисленнее, чем в отдельных коллекциях, что и требуется для более точной ассоциации маркеров с признаками. Практическим результатом такой структуризации стало привлечение в коллекцию ВИР неизвестных в России ценных форм вида *B. rapa*: брокколетто (итальянская культура, близкая по использованию к брокколи *B. oleracea* L.) и листовой/черешковой пурпурной капусты, а также новых типов пекинской капусты (гибриды между сортотипами с ценными салатными признаками), китайской капусты (мини пакчой) и родственных японских листовых овощных, отсутствовавших в коллекции ВИР ранее (мана, хирошимана, куроха). Были выявлены образцы с комплексом ценных признаков для использования непосредственно в овощеводстве и в качестве генетических источников для селекции, прежде всего на скороспелость и высокое содержание биологически активных соединений. Предварительно изучено положение привлеченных форм внутри вида, при этом капуста пурпурная определена в ранге разновидности var. *purpuraria* подвида ssp. *chinensis* — капуста китайская, а брокколетто отнесена к разновидности var. *ruvo*, близкой к листовой репе ssp. *rapa rapifera* f. *komatsuna*.

Следует отметить, что привлечение образцов, отсутствовавших в коллекции ранее, не потребовало проведения дорогостоящих и не всегда плодотворных экспедиций по сбору и интродукции необходимых генотипов — пополнение коллекции произошло за счет выписки образцов из других, имеющих их генных банков. Иными словами, применение молекулярно-генетических методов классификации позволило не только структурировать коллекцию, но и сэкономить время и средства за счет целенаправленного пополнения коллекции недостающими образцами.

Взаимосвязь между молекулярной дивергенцией и гетерозисом. С помощью теоретических расчетов (46) можно показать, что степень гетерозиса гибрида, определяемая как различия между характеристиками этого гибрида и средними показателями его родителей, соотносится с дивергенцией родителей по QTL, проявляющим эффекты доминирования. В рамках диаллельной модели показатель гетерозиса H_{xy}, наблюдаемый при скрещивании двух популяций x и y, может быть выражен следующим образом:

$$H_{xy} = \sum_{l=1}^{L} \sum_{a_l=1}^{2} \frac{1}{2} d_l \left(f_x^{a_l} - f_y^{a_l} \right)^2 ,$$

где d_l — эффект доминирования QTL l (остальные обозначения приведены для D_{xy}). В гибридах F_1 гетерозис связан с гетерозиготностью QTL, которые проявляют эффект доминирования. Если локусы имеют равные эффекты доминирования, то величина гетерозиса будет прямо пропорциональна средней величине гетерозиготности. На основе этой теоретической выкладки, а также упомянутых выше экспериментальных данных по оценке эффекта инбридинга многие генетики пытались предсказать гетерозис, исходя из индексов различий между родителями. Однако результаты, полученные на основе морфологических критериев, в целом разочаровали (47). Частично это можно объяснить причинами, обозначенными ранее: линии с одним и тем же фенотипическим проявлением количественного признака могут содержать различные аллели для каждого конкретного локуса (48). В этом случае гетерозис, предсказанный для гибрида от скрещивания двух линий соответствующего типа, будет нулевым, в то время как реально наблюдаемый — максимальным.

Мы видим, что генетические маркеры, как и количественные признаки, предоставляют информацию о дивергенции генотипов по индивидуальным локусам. Поэтому среднее значение гетерозиготности гибрида может быть установлено, исходя из анализа его родительских линий. На основе этого предположения было проведено несколько исследований, в которых авторы пытались предсказать гетерозис посредством соизмерения индексов дистанций, установленных с помощью генетических маркеров (49). Анализ результатов, полученных на кукурузе и других видах растений (50), приводит к нескольким общим заключениям: во-первых, прогнозы, сделанные с помощью многочисленных молекулярных ДНК-маркеров, в целом представляются более эффективными, чем предположения, основанные на данных по ферментным (белковым) маркерам, число которых ограничено (19, 51, 52), что может быть объяснено лучшим покрытием генома и более высоким числом аллелей ДНК-маркеров на локус; во-вторых, когда наблюдаются существенные корреляции коэффициентов, индексы дивергенций могут проявлять бо́льшую взаимосвязь со специфичной комбинационной способностью (53), также называемой специфичным гетерозисом (54), чем с непосредственными характеристиками гибридов.

Такие выводы можно объяснить с помощью моделей количественной генетики. Прежде всего, следует отметить, что оценка гибридов частично зависит от QTL, имеющих однозначно аддитивный эффект, для которых гетерозиготность не дает какого-либо преимущества, в то время как специфичный гетерозис не зависит от этих локусов. Подобное заключение представляет интерес только в тех пределах, в которых специфичная комбинативная способность существует как компонент гибридного значения, составляя наибольшие трудности для предсказания с помощью «классических» агрономических композиционных построений. Общая комбинационная способность каждой инбредной линии может быть более аккуратно установлена на основе средних показателей у потомков гибрида, полученных с помощью подходящих тестеров. При этом результаты исследований, как правило, напрямую зависят от изучаемого материала. Однако необходимо отметить, что максимальная корреляция значений была получена прежде всего в экспериментах с родственными гибридами (скрещивания между родственными линиями). Так, выполненные исследования (55) включали гибриды, имеющие высокий коэффициент родственности (около 0,9) и вследствие этого демонстрирующие высокую корреляцию. В то же время в другие эксперименты (27) родственные гибриды не включали и, как результат, не выявили существенных достоверных взаимоотношений между генетической дистанцией и гетерозисом. Корреляция уменьшалась, когда родственные гибриды удаляли из набора исследуемых гибридов (23, 48, 56). Эти данные подтверждают общую тенденцию, установленную для изоферментов у кукурузы (57) и впоследствии на горчице (58). И, наконец, в опытах на гетерозисных межгрупповых гибридах (см. выше) не обнаружено никакого взаимоотношения между характеристиками гибрида и дивергенцией по ним родителей (30, 59). Аналогичная информация была получена и на межсубвидовом уровне у риса (60, 61).

Как следует из представленных выше работ, полученные в них результаты довольно разнообразны. И тем не менее, такие данные можно проанализировать теоретически. Для этого прежде всего следует предположить, что все используемые генетические маркеры фенотипически нейтральны. Кроме того, для того чтобы значение было предсказуемым, между маркерными аллелями и аллелями QTL должно существовать неравно-

весное сцепление (англ. linkage disequilibrium) (7, 62, 63). Неравновесие особенно высоко внутри вновь образованных популяций, полученных от ограниченного числа родителей. Это может быть проиллюстрировано результатами работы (64), в которой получили картирующую популяцию F_3 при проведении скрещивания линий кукурузы B73 и Mo17. Каждое изученное растение F_3 было скрещено с каждой из родительских линий, и затем проведена оценка средней продуктивности соответствующего гибридного потомства. Установленная продуктивность демонстрировала высокую корреляцию со средней гетерозиготностью в маркерных локусах (показатель составил 0,68). Как известно, внутри генетической группы неравновесное сцепление может существовать, если группа создана недавно на основе ограниченного числа родителей или если члены группы подверглись достоверному влиянию генетического дрейфа. У аллогамных видов с панмиктическим типом репродукции неравновесное сцепление будет ослабевать с каждым поколением, приводя к уменьшению корреляций во взаимоотношении между генетической дистанцией и гетерозисом (62).

В свете вышеизложенного особенно интересны гибриды между линиями, происходящими от различных генетических групп. Во-первых, на соотношение между дивергенцией и характеристиками этих гибридов влияет не только неравновесное сцепление между маркерами и QTL внутри каждой рассматриваемой группы, но и ассоциации, выявляемые между маркерными аллелями и аллелями QTL, которые должны быть одинаковыми для разных гибридных групп (65). Во-вторых (и это условие не всегда выполнимо), необходимо наличие линий от представителей различных групп, которые, как правило, получены из разных популяций и эволюционировали независимо друг от друга на протяжении очень длительного времени. Наконец, в-третьих, когда внутри- и межгрупповые гибриды рассматривают одновременно, то различия между генетическими группами могут объяснить существование неравновесного сцепления (специфичные аллели групп сцеплены между собой, обусловливая эффект квазисцепления) (66), даже если неравновесие равно нулю внутри каждой из групп. Таким образом, существующая возможность различения и, соответственно, разделения межгрупповых и внутригрупповых гибридов позволяет увеличить предсказуемость получения гибридов с желаемыми характеристиками, как это проиллюстрировано результатами работы, выполненной на бобах (67).

На степень проявления взаимосвязи между гетерозисом и молекулярной дивергенцией, особенно эпистазом и относительно важными эффектами доминирования у QTL, могут влиять и другие генетические факторы. Однако в целом результаты, полученные при совмещении экспериментальных и теоретических данных, как оказалось, могут совпадать с общепринятыми представлениями о взаимоотношениях между гетерозисом и молекулярной дивергенцией, а также условиях, в которых ожидаемое предсказание окажется эффективным (18).

Наконец, важность гибридов между неродственными инбредными линиями приводит к поиску других подходов предсказания гетерозиса. Эти подходы основаны на идеях, развитых ранее и заключающихся в том, что если два гибрида А × Б и А′ × Б′ имеют близкородственных родителей на уровне генетических маркеров (А′ близок к А и Б′ близок к Б), то их гетерозис или специфичная комбинационная способность будут схожими. Для формализации такого подхода был разработан метод (68), основанный на BLUP (англ. best linear unbias prediction) (69). Дистанции ме-

жду линиями применяли здесь для установления коэффициентов сопроисхождения (70), которые затем использовали для установления ковариаций между особями, чьи характеристики известны, с одной стороны, и особями, чьи характеристики необходимо предсказать, с другой стороны. Затем, подставляя значения полученных ковариаций и известных показателей в соответствующую формулу, производили необходимые математические расчеты и на их основе осуществляли прогнозы. Результаты экспериментов демонстрируют, что этот подход может быть эффективным в ситуациях, где метод установления генетических дистанций применить невозможно (71). Следует заметить, что использование BLUP позволяет увеличить точность при определении общей комбинационной способности инбредных родительских линий. Это также может быть использовано на любом этапе селекционной программы, в частности для того, чтобы лучше оценить индивидуальные качества и характеристики особей.

Перспективы изучения генетического разнообразия. Ценность популяции для селекционно значимого отбора зависит не только от среднего значения ее характеристик, но также от степени их варьирования (40). Среднее для популяции в целом может быть предсказано, исходя из среднего для характеристик родителей. Молекулярные маркеры позволяют прогнозировать некоторую степень варьирования, что, как правило, бывает особенно полезным. Так, изучение взаимоотношений между фенотипом и молекулярными дистанциями приводит к заключению, что если предстоит получить селекционную популяцию из двух линий, которые близки на фенотипическом уровне, то в случае линий, которые различаются по маркерным локусам, варьирование в такой селекционной популяции будет выше, а в случае линий, которые схожи по ним, — ниже. Кроме того, в рамках определенной гипотезы можно также показать, что варьирование количественного признака внутри популяции напрямую коррелирует с разнообразием этой популяции по QTL, ответственным за ее вариации (или зависит от него). Поэтому разнообразие, установленное на уровне маркерных локусов, может использоваться для предсказания степени общего разнообразия популяции. Некоторые результаты подтверждают тот факт, что популяции, полученные от родителей с высокой маркерной симилярностью, действительно проявляют низкое генетическое варьирование (например, данные, полученные для сои) (72). Однако другие авторы сообщают о низких коэффициентах корреляции между генетической вариацией популяций и молекулярной дистанцией между родительской парой, например для кукурузы (29), сои (73), яровой пшеницы (74), поэтому необходимы дополнительные исследования для установления возможностей и ограничений подобного подхода.

Итак, на основе обсуждения данных литературы и результатов собственных экспериментов показана возможность установления взаимосвязи между молекулярной дивергенцией и гетерозисом, и в этой связи рассмотрены перспективы использования комбинированного молекулярно-генетического и статистического методов анализа. Представленные методические подходы в большинстве своем уже повсеместно используются в различных селекционных программах за рубежом. В России интерес к ним также увеличивается. Среди других потенциальных применений молекулярных маркеров, в частности для изучения генетического разнообразия образцов дикорастущих и культивируемых видов растений, следует отметить подбор и идентификацию родительских форм, на основе которых получают новые селекционные популяции, что до сих пор остается ключе-

вым моментом для большинства селекционеров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Karp A., Kresovich S., Bhat K.V., Ayad W.G., Hodgkin T. Molecular tools in plant genetic resources conservation: a guide to the technologies. IPGRI Technical Bulletin, 1997, № 2.
2. Spooner D., Van Treuren R., De Vicente M.C. Molecular marker for gene bank management. IPGRI Technical Bulletin, 2005, № 10.
3. Чесноков Ю.В. Генетические ресурсы растений и современные методы ДНК-типирования. СПб, 2007.
4. Кочерина Н.В., Чесноков Ю.В. Статистический анализ генетического разнообразия, выявляемого молекулярными маркерами на уровне аллелей популяций. Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета, 2013, 32: 26-32.
5. Dudley J.W. Molecular markers in plant improvement: Manipulation of genes affecting quantitative traits. Crop Sci., 1993, 33: 660-668
6. Francia E., Tacconi G., Crosatti C., Barabaschi D., Bulgarelli D., Dall'Aglio E., Vale G. Marker assisted selection in crop plants. Plant Cell Tissue Organ Cult., 2005, 82: 317-342.
7. Чесноков Ю.В. Картирование локусов количественных признаков у растений. СПб, 2009.
8. Кочерина Н.В., Чесноков Ю.В. Статистический анализ генетического разнообразия, выявляемого молекулярными маркерами на уровне аллелей нуклеотидных последовательностей. Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета, 2013, 30: 42-47.
9. Кочерина Н.В., Артемьева А.М., Чесноков Ю.В. Использование лод-оценки в картировании локусов количественных признаков у растений. Доклады Россельхозакадемии, 2011, 3: 14-17.
10. De Vienne D., Damerval C. Mesures de la divergence genetique: 3. Distances calculees a partier de marqueurs moleculares. In: Les Distances Genetiques /M. Lefort, D. De Vienne (eds.). INRA, Paris, 1985: 41-57.
11. Rogers J.S. Measures of genetic similarity and genetic distance. In: Studies in Genetics. VII /M.R Wheeler. (ed.). University of Texas Publ. 7213, 1972: 145-153.
12. Nei M., Li W.H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. PNAS USA, 1979, 76: 5269-5273.
13. Dillmann C., Bar-Hen A., Guerin D., Charcosset A., Murigneux A. Comparison of RFLP and morphological distances between maize *Zea mays* L. inbred lines. Consequences for germplasm protection purposes. Theor. Appl. Genet., 1997, 95: 92-102.
14. Dillmann C., Charcosset A., Goffnet B., Smith J.S.C., Dattee Y. Best linear unbiased estimators of the molecular genetic distance between inbred lines. In: Advances in Biometrical Genetics /P. Krajewski, Z. Kaczmarek (eds.). Poznan, 1997: 105-110.
15. Wang J., Bernardo R. Variance of marker estimates of parental contributions to F_2 and BC_1 derived inbreds. Crop Sci., 2000, 40: 659-665.
16. Bar-Hen A., Charcosset A. Relationship between molecular and morphological distances in a maize inbred lines collection: Application for breeders' right protection. In: Biometrics in plant breeding: Application of molecular markers. Proc. 9th Meeting of the Eucarpia Section Biometrics in Plant Breeding /J.W. Van Oijen, J. Jansen (eds.). Wageningen, 1994: 57-66.
17. Ward J.H. Hierarchical grouping to optimize an objective function. J. Am. Stat. Assos., 1963, 58: 236-244.
18. Melchinger A.E. Genetic diversity and heterosis. In: The genetics and exploitation of heterosis in crops /J.G. Coors, S. Pandey (eds.). Proc. International Symposium on the Genetics and Exploitation of Heterosis in Crops (CIMMYT, Mexico 17-22/08/1997). Mexico, 1999, chap. 10: 99-118.
19. Smith O.S., Smith J.S.C., Bowen S.L., Tenborg R.A., Wall S.J. Similarities among a group of elite maize inbreds as measured by pedigree, F_1 grain yield, grain yield, heterosis and RFLPs. Theor. Appl. Genet., 1990, 80: 833-840.
20. Bernardo R., Kahler A.I. North American study on essential derivation in maize: inbreds developed without and with selection from F_2 populations. Theor. Appl. Genet., 2001, 102: 986-992.
21. Damerval C., De Vienne D. Divergence morphologique et divergence moleculare: 1. Apport des margueurs proteiques. In: Les distances genetiques /M. Lefort-Buson, D. De Vienne (eds.). INRA, Paris, 1985: 3-22.
22. Moser H., Lee M. RFLP variation and genealogical distance, multivariate distance, heterosis, and genetic variance in oats. Theor. Appl. Genet., 1994, 87: 947-956.
23. Burstin J., Charcosset A., Barriere Y., Herbert Y., De Vienne D.,

Damerval C. Molecular markers and protein quantities as genetic descriptors in maize. II. Prediction of performance of hybrids for forage traits. Plant Breeding, 1995, 114: 427-433.
24. Burstin J., Charcosset A. Relationship between phenotypic and marker distances: theoretical and experimental investigations. Heredity, 1997, 118: 519-526.
25. Hayes H.K., Johnson I.J. The breeding of improved selfed lines of corn. J. Am. Soc. Agron., 1939, 31: 710-724.
26. Krug C.A., Viegas G.P., Paolieri L. Hibridos comercialis de Milho. Bragantia, 1943, 3: 367-552.
27. Godshalk E.B., Lee M., Lamkey K.R. Relationship of restriction fragment length polymorphisms to single-cross hybrid performance of maize. Theor. Appl. Genet., 1990, 80: 273-280.
28. Dudley J.W., Saghal Maroof M.A., Rufener G.K. Molecular markers and grouping of parents in maize breeding programs. Crop Sci., 1991, 31: 718-723.
29. Melchinger A.E., Messmer M.M., Lee M., Woodman W.L., Lamkey K.R. Diversity and relationships among U.S. maize inbreds revealed by restriction fragment length polymorphisms. Crop Sci., 1991, 31: 669-678.
30. Boppenmeier J., Melchinger A.E., Brunklaus-Jung E., Geiger H.H. Herrmann R.G. Genetic diversity for RFLPs in European maize inbreds: I. Relation to performance of Flint × Dent crosses for forage traits. Crop Sci., 1992, 32: 895-902.
31. Livini C., Ajmone-Marsan P., Melchinger A.E., Messmer M.M., Motto M. Genetic diversity of maize inbred lines within and among heterotic groups revealed by RFLPs. Theor. Appl. Genet., 1992, 84: 17-25.
32. Messmer M.M., Melchinger A.E., Boppenmeier J., Herrmann R.G., Brunkslaus-Jung E. RFLP analysis of early-maturing European maize germplasm. I. Genetic diversity among flint and dent inbreds. Theor. Appl. Genet., 1992, 83: 1003-1012.
33. Dubreuil P., Dufour P., Krejci E., Causse M., De Vienne D., Gallais A., Charcosset A. Organization of RFLP diversity among inbred lines of maize representing the most significant heterotic groups. Crop Sci., 1996, 36: 790-799.
34. Tersac M., Blanchard P., Brunel D., Vincourt P. Relations between heterosis and enzymatic polymorphism in populations of cultivated sunflowers (*Heliantus annuus* L.). Theor. Appl. Genet., 1994, 88: 49-55.
35. Gentzbittel I., Zhang Y.X., Vear F., Griveau B., Nicolas P. RFLP studies of genetic relationships among inbred lines of the cultivated sunflower, *Heliantus annuus* L.: evidence for distinct restorer and maintainer germplasm pools. Theor. Appl. Genet., 1994, 89: 419-425.
36. Bark O.H., Heavey M.J. Similarities and relationships among populations of the bulb onion estimated by RFLPs. Theor. Appl. Genet., 1995, 90: 407-414.
37. Keim P., Shoemaker R.C., Palmer R.G. Restriction fragment length polymorphism diversity in soybean. Theor. Appl. Genet., 1989, 77: 786-792.
38. Deu M., Gonzalez de Leon D., Glaszmann J.C., Degremont I., Chantereau J., Lanaud C., Hamon P. RFLP diversity in cultivated sorghum in relation to racial differentiation. Theor. Appl. Genet., 1994, 88: 834-844.
39. Melchinger A.E., Graner A., Singh M., Messmer M.M. Relationships among European barley germplasm. I. Genetic diversity among winter and spring cultivars revealed by RFLP. Crop Sci., 1994, 34: 1191-1199.
40. Gallais A. Theorie de la Selection en Amelioration des Plantes. Masson ed., 1990.
41. Brown A.H.D., Burdon J.J., Jarosz A.M. Isozyme analysis of plant mating system. In: Isozyme in plant biology /D.E. Soltis, P.S. Soltis (eds.). Dioscorides Press, 1989: 73-105.
42. Van Hintum T.J.L. Comparison of marker systems and construction of a core collection in a pedigree of European spring barley. Theor. Appl. Genet., 1994, 89: 991-997.
43. Gouesnard B., Bataillon T.M., Decoux G., Rozale C., Schoen D.J., David J.L. MSTRAT: An algorithm for building germplasm core collection by maximizing allelic or phenotypic richness. J. Heredity, 2001, 92: 93-94.
44. Zhao J., Artemyeva A., Pino Del Carpio D., Basnet R.K., Zhang N., Gao J., Li F., Bucher J., Wang X., Visser R.G.F., Bonnema G. Design of a *Brassica rapa* core collection for association mapping studies. Genome, 2010, 53: 884-898.
45. Артемьева А.М., Руднева Е.Н., Цао Ж., Боннема Г., Будан Х., Чесноков Ю.В. Поиск ассоциаций молекулярных маркеров с признаком времени перехода к цветению в естественных и искусственных популяциях *Brassica rapa* L. Сельскохозяйственная биология, 2012, 1: 21-32.
46. Falconer D.S. Introduction to Quantitative Genetics. 2nd ed. Longman, London, 1961.
47. Lefort-Buson M. Distance geneque et heterosis. 4. Utilisation des criteres biometriques. In: Les distances genetiques /M. Lefort-Buson, D. De Vienne (eds.). INRA, Paris, 1985: 143-157.
48. Charcosset A. Prediction of heterosis. In: Reproductive biology and plant breeding. Proc.

XIIIth Eucarpia Meeting /Y. Dattee, C. Dumas, A. Gallais (eds.). Springer-Verlag, 1992: 355-369.
49. Lefort-Buson M. Distance genetique et heterisis. 1. Mise en evidence d'une relation entre heterosis and divergence genetique. Les distances genetiques /M. Lefort-Buson, D. De Vienne (eds.). INRA, Paris, 1985: 3-46.
50. De Vienne D. Marquerurs moleculares en genetique et biotechnologies vegetales. INRA, Paris, 2002.
51. Chesnokov Yu.V., Shutov A.D. 11S seed storage globulins: Are they reliable as molecular markers? Recent Research Development in Genetics and Breeding, 2004, 1(Part II): 181-194.
52. Чесноков Ю.В., Шутов А.Д. Запасные 11S-глобулины семян как альтернатива ДНК-маркерам. Доклады Россельхозакадемии, 2006, 3: 7-11.
53. Sprague G.F., Tatum L.A. General vs specific combining ability in single crosses of corn. J. Am. Soc. Agron., 1942, 34: 923-932.
54. Gardner C.O., Eberhart S.A. Analysis and interpretation of the variety cross diallele and related populations. Biometrics, 1966, 22: 439-452.
55. Smith O.S., Smith J.S.C. Measurement of genetic diversity among maize hybrids: A comparison of isozymic, RFLP, pedigree and heterosis data. Maydica, 1992, 37: 53-60.
56. Ajmone-Marsan P., Castiglioni P., Fusari F., Kuiper M., Motto M. Genetic diversity and its relationship to hybrid performance in maize as revealed by RFLP and AFLP markers. Theor. Appl. Genet., 1998, 96: 219-227.
57. Frei O.M., Stuber C.W., Goodman M.M. Use of allozymes as genetic markers for predicting performance in maize single cross hybrids. Crop Sci., 1986, 26: 37-42.
58. Sekhon M.S., Gupta V.P. Genetic distance and heterosis in Indian mustard: developmental isozymes as indicators of genetic relationships. Theor. Appl. Genet., 1995, 91: 1148-1152.
59. Melchinger A.E., Boppenmeier J., Dhillon B.S., Pollmer W.G., Herrmann R.G. Genetic diversity for RFLPs in European maize inbreds. II. Relation to perfomance of hybrids within versus between heterotic groups for forage traits. Theor. Appl. Genet., 1992, 84: 672-681.
60. Xiao J., Yuan L., McCouch S.R., Tanksley S.D. Genetic diversity and its relationship to hybrid performance and heterosis in rice as revealed by PCR-based markers. Theor. Appl. Genet., 1996, 92: 647-643.
61. Saghai-Maroof M.A., Yang G.P., Zhang Q., Gravois K.A. Correlation between molecular marker distance and hybrid perfomance in U.S. southern long grain rice. Crop. Sci., 1997, 37: 145-150.
62. Charcosset A., Lefort-Buson M., Gallias A. Relationships between heterosis and heterozygosity at marker loci: a theoretical computation. Theor. Appl. Genet., 1991, 81: 571-575.
63. Чесноков Ю.В., Артемьева А.М. Ассоциативное картирование у растений. Сельскохозяйственная биология, 2011, 5: 3-16.
64. Stuber C.W., Lincoln S.E., Wolf D.W., Helebtjaris T., Lander E.S. Identification of genetic factors contributing to heterosis in a hybrid from two elite maize inbred lines using molecular markers. Genetics, 1992, 132: 823-839.
65. Charcosset A., Essioux L. The effect of population structure on the relationship between heterosis and heterozygosity at marker loci. Theor. Appl. Genet., 1994, 89: 336-343.
66. Жученко А.А., Король А.Б. Рекомбинация в эволюции и селекции. М., 1985.
67. Nienhuis J., Sills G. The potential of hybrid varieties in self-pollinating vegetables. In: Reproductive biology and plant breeding. Proc. XIIIth Eucarpia Meeting /Y. Dattee, C. Dumas, A. Gallais (eds.). Springer-Verlag, 1992387-1992396.
68. Bernardo R. Prediction of maize single cross performance using RFLPs and information from related hybrids. Crop. Sci., 1994, 34: 20-25.
69. Henderson C.R. Best linear unbias estimation and prediction under a selection model. Biometrics, 1975, 31: 423-447.
70. Bernardo R. Estimation of coefficient of coancestry using molecular markers in maize. Theor. Appl., Genet., 1993, 85: 1055-1062.
71. Charcosset A., Bonnisseau B., Touchebeuf O., Burstin J., Dubreuil P., Barriere Y., Gallais A., Denis J.B. Prediction of maize hybrid silage performance using marker data: comparison of several models for specific combining ability. Crop Sci., 1998, 38: 38-43.
72. Manjarrez-Sandoval P., Carter T.E.J., Webb D.M., Burton J.W. RFLP genetic similarity and coefficient of percentage as genetic variance predictors for soybean yield. Crop Sci., 1997, 37: 698-703.
73. Kisha T.J., Sneller C.H., Diers B.W. Relationship between genetic distance among parents and genetic variance in populations of soybean. Crop Sci., 1997, 37: 1317-1325.
74. Burkhamer R.L., Lanning S.P., Martens R.J., Martin J.M., Talbert L.E.

Prediction progeny variance from parental divergence in hard red spring wheat. Crop Sci., 1998, 38: 243-248.

ГНУ Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова Россельхозакадемии,
190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 44,
e-mail: yu.chesnokov@vir.nw.ru

Поступила в редакцию 25 июня 2013 года

STATISTICAL ANALYSIS AND MOLECULAR MARKERS IN PLANT BREEDING FOR HETEROSIS
(review)

Yu.V. Chesnokov, N.V. Kocherina, A.M. Artemyeva

All-Russia Research Institute of Plant Industry of the Russian Academy of Agricultural Sciences, 44, ul. Bolshaya Morskaya, Saint Petersburg, 190000 Russia, e-mail yu.chesnokov@vir.nw.ru

Abstract

A contribution of molecular markers to investigation of genetic diversity, including diversity in collection accessions preserved in gene banks of plant genetic resources (PGR), is discussed. It is shown the role of establishment of interaction between molecular divergence, phenotype divergence and coancestry of PGR accessions, as well as the possibility to use molecular-genetic analysis for classification upon heterotic groups and PGR management. On the basis of statistical analysis and own results of investigations, it is shown the possibility to establish interaction between molecular divergence and heterosis, and perspectives for using combined molecular-genetic and statistical methods of analysis. Discussed methodical approaches are mainly in use in different breeding program abroad. In Russia, the interest to these approaches is raising too. Among potential applications of molecular markers it is necessary to note selection and identification of parent forms on which new breeding populations are obtained. It makes a key moment for most breeders. Use of statistical approaches as an addition to molecular and genetic ones allows not only to simplify and classify selection of parent pairs, but also to reduce considerably the expenses for breeding material evaluation.

Keywords: plant genetic resources, molecular markers, statistical analysis, heterosis, plant breeding.

Новые книги

Зинченко В.А. **Химическая защита растений: средства, технология и экологическая безопасность.** М.: изд-во «КолосС», 2012, 247 с.

Рассмотрены основы агрономической токсикологии, факторы, определяющие избирательную токсичность пестицидов и устойчивость к ним вредных организмов, поведение пестицидов в окружающей среде и обеспечение экологической безопасности их использования, а также препаративные формы и технология применения пестицидов. Даны характеристики основных групп и отдельных препаратов современного ассортимента пестицидов. Второе издание переработано и дополнено новыми данными. Для студентов, а также для научных сотрудников и специалистов по защите растений.

Дьяков Ю.Т. **Фундаментальная фитопатология.** М.: изд-во «Эдиториал УРСС», 2012, 512 с.

Пособие посвящено изложению наиболее важных проблем современной фитопатологии, прежде всего молекулярных аспектов взаимоотношений растений и их паразитов. Молекулярные исследования механизмов фитоиммунитета позволили найти общие каналы эволюции иммунитета у растений, беспозвоночных и позвоночных животных и аргументировать наличие общей теории иммунитета. Молекулярные исследования показали также, что в основе рецепторных механизмов и сигнальной трансдукции растений, приводящих к паразитизму или симбиозу, нет принципиальных различий. Наконец, молекулярные исследования взаимодействий паразитов и растений привели к созданию нового поколения химических средств защиты растений — экологически безопасных, неспецифических и персистентных. Все эти вопросы находятся в центре внимания книги. Отдельные главы посвящены современным методам диагностики болезней растений, которые также широко используются при диагностике болезней животных и человека; общности реакции сверхчувствительности растений и апоптоза животных; экологическим аспектам болезней растений (новейшие данные свидетельствуют, что без паразитов не может стабильно существовать ни один биоценоз) и другим вопросам. Для преподавателей, аспирантов и студентов классических университетов и сельскохозяйственных вузов, а также для научных сотрудников, работающих в области фитопатологии, защиты растений и сельскохозяйственной биотехнологии.