

ГЕНЕТИКА ПОПУЛЯЦИЙ И ЭВОЛЮЦИЯ

УДК 575.222.7

© Г. Д. Кадырова¹,
Ф. З. Кадырова¹,
Н. Н. Рыжова², Е. З. Кочиева²

RAPD-АНАЛИЗ ГЕНОМНОГО ПОЛИМОРФИЗМА ВИДОВ И СОРТОВ РОДА *FAGOPYRUM*

ВВЕДЕНИЕ

¹ ГНУ «Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства», Казань

² Центр «Биоинженерия»
Российской академии наук,
Москва

✿ Проведен молекулярный RAPD-анализ геномного разнообразия культурных видов рода *Fagopyrum* — *F. esculentum*, *F. tataricum*, а также близкородственных *F. giganteum* и *F. cymosum*. Подтверждено родство *F. cymosum*, *F. giganteum* и *F. tataricum*. Установлено, что уровень внутривидового геномного разнообразия представителей *F. tataricum* (0,01–0,15) существенно ниже разнообразия *F. esculentum* (0,10–0,33). Впервые исследовано генетическое разнообразие сортов гречихи *F. esculentum* отечественной селекции. Показан высокий уровень межсортового геномного полиморфизма *F. esculentum* (0,10–0,29) сравнимый с разнообразием образцов дикорастущих форм этого вида гречихи.

✿ **Ключевые слова:** гречиха; RAPD-метод; биоразнообразие; внутривидовой и межвидовой полиморфизм

Гречиха (род *Fagopyrum* Mill, сем. *Polygonaceae* — гречишные) — одна из ценнейших крупяных культур. Она все больше приобретает значение в качестве важного диетического продукта, и некоторые ее формы используются как сырье для получения ценного лекарственного препарата из группы флавоноидов — рутина.

Все исследователи признают азиатское происхождение гречихи (Кротов, 1975; Campbell, 1997). Тем не менее, вопрос о центре ее происхождения остается открытым, и в настоящее время существуют две точки зрения. Согласно одной из них этим центром является Западный Тибет (Индия), где было обнаружено большое разнообразие ее видов (Комаров, 1938; Столетова, 1958). Однако наибольшую поддержку получает точка зрения Н. И. Вавилова о китайском происхождении гречихи. Это связано с тем, что в последнем десятилетии XX века японскими исследователями в районах Восточного Тибета и юго-западного Китая было найдено и описано 13 новых, ранее неизвестных, диких видов и подвидов рода *Fagopyrum*, в том числе и дикорастущие, предположительно предковые формы гречихи культурной (Murai and Ohnishi, 1996; Ohnishi, 1998; Лаханов и др., 2004; Konishi et al., 2005).

На основании последних данных принято выделять 15 видов *Fagopyrum* (Ohnishi, 1998), которые подразделяются на две главные филогенетические группы: *cymosum* и *urophyllum* (Yamane et al., 2003). Группа *cymosum* характеризуется крупными плодами и включает два культурных (*F. esculentum* Moench, *F. tataricum* Gaertn) и два диких вида (*F. homotropicum* Ohnishi, *F. cymosum* Meissn) гречихи. Группа *urophyllum*, с мелкими плодами, включает вид *F. urophyllum* (Bur. et. Franch) Gross и 11 оставшихся диких видов (Yamane et al., 2003). Таким образом, из 15 видов гречихи, культивируется два вида — посевная (*F. esculentum*) и татарская (*F. tataricum*) (Campbell, 1997).

Наибольшее распространение на территории России получила гречиха посевная *F. esculentum* ssp. *esculentum* (2n = 16). Относительно недавно в китайской провинции Яннуань была обнаружена форма *F. esculentum* ssp. *ancestrale*, которая, как предполагается, и является предком современных сортов посевной гречихи *F. esculentum* ssp. *esculentum* (Kishima et al., 1995; Ohnishi and Matsuoka, 1996). Согласно другой, более ранней версии происхождения гречихи посевной, предком этого вида является многолетний вид *F. cymosum* (Campbell, 1976, цит. по Campbell, 1997). Как и *F. esculentum*, вид *F. cymosum* характеризуется гетеростилией и опыляется с помощью насекомых (Campbell, 1997).

Другой, весьма распространенный культурный вид однолетней гречихи *F. tataricum* ssp. *tataricum* (2n = 16) возделывается преимущественно в высокогорных районах Китая, Японии, Индии, Непала, а также в ряде Европейских стран. В отличие от гречихи посевной, гречиха татарская менее требовательна к условиям произрастания (Алексеева и др., 2005; Tsuji and Ohnishi, 2001). Недавно была описана предполагаемая дикорастущая предковая форма

Поступила в редакцию 02.06.2008
Принята к публикации 25.09.2008

F. tataricum ssp. *potanini* (2n = 16), встречающаяся также как и посевная гречиха в юго-восточных провинциях Китая и Гималаях (Ohnishi, 1998). Цветки растений этого вида в отличие от *F. esculentum* гомоморфные, самофертильные и клейстогамные, то есть, способны к самоопылению до раскрытия околоцветника. *F. tataricum* используется в скрещиваниях с целью улучшения сортов *F. esculentum*, придания большей морозостойкости и общей жизнеспособности растений, а также повышения процента завязывающихся цветков за счет самоопыления (Campbell, 1997).

Среди межвидовых гибридов у гречихи особый интерес представляет искусственный амфидиплоидный вид *F. giganteum*, полученный А. С. Кротовым (1975) от скрещивания *F. tataricum* × *F. cymosum*. Также известны гибриды между *F. esculentum* и *F. cymosum*, описанные А. Ujihara с сотр. (1990) и Т. Hirose с сотр. (1993). Исследование таких гибридов в первом и последующих поколениях с помощью классических подходов генетики и цитогенетики, а также молекулярных методов анализа геномов используются для решения вопросов филогении, эволюции и происхождения видов гречихи (Campbell, 1997).

Помимо эволюционно-филогенетических вопросов рода *Fagopyrum*, отдельный интерес представляет определение внутривидового и межсортового полиморфизма видов этого рода как с целью исследования возможных границ видов, так и для оценки генетической основы образцов (как дикорастущих, так и селекционных сортов). Сортимент гречихи *F. esculentum*, возделываемой на территории России, представлен преимущественно селекционными сортами, полученными в результате отборов из гибридных популяций или мутагенеза. Их генетическое родство, уровни геномного полиморфизма, а также их возможная агроэкологическая дифференциация изучены слабо.

В настоящее время род *Fagopyrum* довольно интенсивно исследуется, в том числе и молекулярными методами анализа геномов. Так, анализ нуклеотидного полиморфизма внутренних транскрибируемых спейсеров (ITS) генов ядерной рибосомной РНК (Yasui and Ohnishi, 1998a) и последовательностей хлоропластной ДНК (*rbcL* и *accD*) (Yasui and Ohnishi, 1998b) использовался для установления филогении рода *Fagopyrum*. RAPD-метод был применен с целью выявления межвидового полиморфизма и определения филогенетических отношений гречихи (Sharma and Jana, 2002). Результаты этих исследований в целом подтвердили классификацию *Fagopyrum*, основанную на морфологических данных и данных полиморфизма аллозимов.

Анализ нуклеотидного полиморфизма интрона гена *trnK* хлоропластного генома позволил определить положение двух недавно описанных видов гречихи в систематике рода (Ohsako et al., 2002). По результатам анализа полиморфизма другого участка хлоропластной ДНК (межгенного спейсера *trnC-rpoB*) среди популяций вида

F. urophyllum были идентифицированы две географические группы и предложено выделение новых видовых таксонов (Kawasaki, Ohnishi, 2006).

Такие молекулярные методы как AFLP, RAPD, SSR использовались для оценки внутривидового биоразнообразия дикорастущих форм и сортов *F. tataricum* и *F. esculentum*, преимущественно японской селекции, а также определения центров происхождения и путей распространения этих видов (Sharma, Jana, 2001; Tsuji, Ohnishi, 2001; Iwata et al., 2005; Konishi et al., 2005).

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Целью данной работы стал RAPD-анализ межвидового и внутривидового полиморфизма гречихи. Для осуществления поставленной цели были выделены следующие задачи: 1) анализ геномного разнообразия культурных однолетних видов рода *Fagopyrum* — *F. esculentum*, *F. tataricum*, а также близкородственных *F. giganteum* и многолетнего *F. cymosum*; 2) исследование внутривидового полиморфизма *F. esculentum*, *F. tataricum* и оценка геномного разнообразия сортов отечественной селекции *F. esculentum*; 3) молекулярная характеристика образцов коллекций гречихи генбанка ГНУ ГНЦ РФ ВИР и современных сортов отечественной селекции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для молекулярного анализа генома образцов гречихи из коллекций генбанка ГНУ ГНЦ РФ ВИР и ГНУ ТатНИИСХ были подобраны 47 представителей рода *Fagopyrum* из различных регионов мира, среди которых два культурных вида гречихи *F. esculentum* (22 образца, включая 14 сортов) и *F. tataricum* (24 образца), а также близкородственные — дикорастущий вид *F. cymosum* и искусственный амфидиплоидный вид гибридного происхождения *F. giganteum* (табл. 1).

Растительную ДНК образцов выделяли из 8–10-дневных проростков гречихи по стандартной методике, с дополнительной депротеинизацией смесью фенол/хлороформ (Edwards et al., 1991).

В работе использовали 34 праймера серии OPD, OPN, ОРК, ОРА, ОРН, ОРЕ (“Operon Technologies”, США). Реакцию амплификации проводили в реакционной смеси объемом 15 мкл, содержащей 2,5 мМ MgCl₂, 0,2 мМ каждого dNTP; 0,5 мМ праймера; 0,3 единицы Taq полимеразы, 1х буфер из соответствующего набора («Диалат ЛТД», Москва) и 100 нг геномной ДНК, в термоциклере GeneAmp PCR System2700 (“Applied Biosystems”, США) в режиме: денатурация — 30 сек. при 94 °С; отжиг праймера — 45 сек. при 37 °С; синтез ДНК — 1 мин. при 72 °С с числом циклов — 36 и предварительной денатурацией — 5 мин. (94 °С). Заключительный цикл элонгации проводили при 72 °С — 10 мин.

Таблица 1

Образцы видов *Fagopyrum*, взятые в анализ

№	Вид	№ каталога, сорт	Происхождение
1	<i>F. tataricum</i>	94	Непал
2	<i>F. tataricum</i>	73	Монголия
3	<i>F. tataricum</i>	59	Китай
4	<i>F. tataricum</i>	64	Амурская обл.
5	<i>F. tataricum</i>	112	Камчатская обл.
6	<i>F. tataricum</i>	55	Читинская обл.
7	<i>F. tataricum</i>	32	Иркутская обл.
8	<i>F. tataricum</i>	9	Алтайский край
9	<i>F. tataricum</i>	43	Тюменская обл.
10	<i>F. tataricum</i>	65	Татарстан
11	<i>F. tataricum</i>	34	Ровенская обл.
12	<i>F. tataricum</i>	38	Брестская обл.
13	<i>F. tataricum</i>	66	Могилевская обл.
14	<i>F. tataricum</i>	25	Тернопольская обл.
15	<i>F. tataricum</i>	57	Польша
16	<i>F. tataricum</i>	46	Швейцария
17	<i>F. tataricum</i>	61	Германия
18	<i>F. tataricum</i>	98	Швеция
19	<i>F. tataricum</i>	8	Франция
20	<i>F. tataricum</i>	42	Голландия
21	<i>F. tataricum</i>	14	Италия
22	<i>F. tataricum</i>	50	Англия
23	<i>F. tataricum</i>	62	Канада
24	<i>F. giganteum</i>	109	Полтавская обл.
25	<i>F. cymosum</i>	4231	Индия
26	<i>F. esculentum</i>	4131	Канада
27	<i>F. esculentum</i>	4233	Япония
28	<i>F. esculentum</i>	549	Япония
29	<i>F. esculentum</i>	4170	Индия
30	<i>F. esculentum</i>	4117	Китай
31	<i>F. esculentum</i>	140	Китай
32	<i>F. esculentum</i>	143	Китай
33	<i>F. esculentum</i>	4350	Непал
34	<i>F. esculentum</i>	Кама	ГНУ Тат НИИСХ (Казань)
35	<i>F. esculentum</i>	Чатыр Тау	ГНУ Тат НИИСХ (Казань)
36	<i>F. esculentum</i>	Скороспелая-86	ВНИИ ЗБК (Орел)
37	<i>F. esculentum</i>	Краснострелецкая	ГНУ Тат НИИСХ (Казань), ВНИИ ЗБК (Орел)
38	<i>F. esculentum</i>	Казанская крупнозерная	ГНУ Тат НИИСХ (Казань)
39	<i>F. esculentum</i>	Каракитянка	ГНУ Тат НИИСХ (Казань)
40	<i>F. esculentum</i>	Саулык	ГНУ Тат НИИСХ (Казань)
41	<i>F. esculentum</i>	Черемшанка	ГНУ Тат НИИСХ (Казань)
42	<i>F. esculentum</i>	Богатырь	Шатиловская опытная станция (Орл. обл.)
43	<i>F. esculentum</i>	Шатиловская-5	ВНИИ ЗБК (Орел)
44	<i>F. esculentum</i>	Баллада	ВНИИ ЗБК (Орел)
45	<i>F. esculentum</i>	Молва	ВНИИ ЗБК (Орел)
46	<i>F. esculentum</i>	Батыр	ГНУ Тат НИИСХ (Казань)
47	<i>F. esculentum</i>	Деметра	ВНИИ ЗБК (Орел)

Все реакции были проведены в двукратной повторности. Продукты реакции амплификации разделяли электрофорезом в 1,7 % агарозном геле (High resolution, "Sigma", MetaPhor, "Cambrex", США) в 1×TBE буфере, с последующим окрашиванием бромистым этидием.

В статистический анализ были включены только четкие, воспроизводимые фрагменты размером от 300 до 2000 п. н.

Статистическую обработку данных, расчет генетических расстояний (GD), кластерный UPGMA и PCA-анализ проводили с использованием программ STATISTICA-6.0 и TREECON (Van de Peer and de Wachter, 1994).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из 34 RAPD-праймеров протестированных на ограниченном наборе представителей рода *Fagopyrum*, для последующего анализа были отобраны пять наиболее информативных (ОРК10, ОРА10, ОРА17, ОРА19 и ОРН19), позволяющих получать высоко полиморфные и воспроизводимые спектры ДНК фрагментов генома гречихи.

Использование отобранных праймеров для молекулярного RAPD-анализа 47 представителей 4 видов гречихи: *F. esculentum*, *F. tataricum*, *F. giganteum* и *F. cymosum* позволило детектировать 132 полиморфных фрагмента генома гречихи длиной от 330 до 2000 п. н. Число фрагментов на праймер варьировало от 26 (праймер ОРА 10) до 39 (праймер ОРА 19). В результате каждый образец был охарактеризован уникальным набором RAPD-фрагментов. Всего было выявлено 12 фрагментов специфичных для представителей вида *F. esculentum*, 10 — для представителей вида *F. tataricum*. Семь фрагментов отличали генотипы отдельных сортов (Скороспелая-86 — 860_{ОРА10}; Богатырь — 1800_{ОРА10} и 1300_{ОРА19}; Молва — 980_{ОРА10}; Краснострелецкая — 430_{ОРА17}; Баллада — 1250_{ОРА19}; Казанская крупнозерная — 1900_{ОРК10}). Выявленные уникальные фрагменты впоследствии могут быть использованы для разработки геномспецифичных ДНК-маркеров сортов и видов гречихи.

Расчитанные коэффициенты попарных генетических расстояний (GD) показали, что диапазон различий геномов, взятых в анализ представителей рода *Fagopyrum* варьировал в пределах от 0,01 до 0,54 (табл. 2). При этом образцы вида *F. esculentum* характеризовались наибольшим уровнем внутривидовой геномной вариабельности (GD 0,10-0,33). Полученные данные были сопоставимы с результатами AFLP-анализа *F. esculentum*, где межсортовые генетические различия также достигали 0,3 (Iwata et al., 2005), а вариабельность культивируемых и дикорастущих популяций 0,1–0,36 (Konishi et al., 2005). В RAPD-анализе популяций этого вида генетические различия в среднем составили 0,25 (Sharma and Jana, 2001).

Внутривидовой полиморфизм другого культурного вида гречихи, *F. tataricum*, представленного образцами из разных регионов мира, оказался более чем в два раза

Таблица 2

Внутривидовые и межвидовые генетические расстояния образцов гречихи

Виды	Генетические расстояния
<i>F. tataricum</i>	0,013–0,15
<i>F. esculentum</i>	0,10–0,33
<i>F. esculentum copra</i>	0,10–0,29
<i>F. tataricum</i> – <i>F. esculentum</i>	0,30–0,54
<i>F. tataricum</i> – <i>F. giganteum</i>	0,14–0,22
<i>F. tataricum</i> – <i>F. cymosum</i>	0,17–0,23
<i>F. giganteum</i> – <i>F. cymosum</i>	0,11
<i>F. esculentum</i> – <i>F. giganteum</i>	0,38–0,52
<i>F. esculentum</i> – <i>F. cymosum</i>	0,33–0,47

ниже (GD 0,01–0,15) внутривидового полиморфизма *F. esculentum* и сравним с данными анализа генома 11 популяций *F. tataricum* (GD 0,02–0,11), также исследованных Т. R. Sharma и S. Jana (2001).

Существование таких различий геномного разнообразия двух культурных видов гречихи связано, вероятно, с более узкой генетической основой *F. tataricum*, обусловленной самоопылением, а также временем возникновения видов. Так, в работах по вариабельности локусов хлоропластной ДНК было показано, что *F. tataricum* представляет собой сравнительно молодой вид, возникший в результате утраты системы самонесовместимости и быстрого формирования репродуктивной изоляции от предполагаемого предкового вида (Yamane et al., 2003).

Аллогамия, самонесовместимость и преобладание перекрестного опыления у *F. esculentum*, по всей видимости, способствовали поддержанию высокого уровня внутривидовой/внутрисортовой гетерогенности, а локальность распространения стародавних сортов гречихи определили отмечаемый высокий уровень межсортового и популяционного разнообразия гречихи *F. esculentum*.

Расчитанные коэффициенты межвидового разнообразия исследованных четырех видов гречихи, показали, что наиболее генетически отдаленными в исследуемом наборе видов являются *F. esculentum* и *F. tataricum* (0,30–0,54). В свою очередь, наименьшая степень различий характеризовала образцы видов *F. giganteum* и *F. cymosum* (0,11). Известно, что *F. giganteum* представляет собой гибридный вид, полученный А. Н. Кротовым (1975) от скрещивания *F. tataricum* и *F. cymosum*. Действительно, результаты проведенного RAPD анализа подтверждают геномное сходство всех трех видов: *F. giganteum*, *F. cymosum*, *F. tataricum*. При этом интересно отметить, что степень сродства *F. giganteum* с видом *F. cymosum* весьма высока и скорее соответствует уровню внутривидовых различий (0,11) исследованных образцов гречихи. Эти данные, полученные в результате RAPD анализа случайных последовательностей геномов

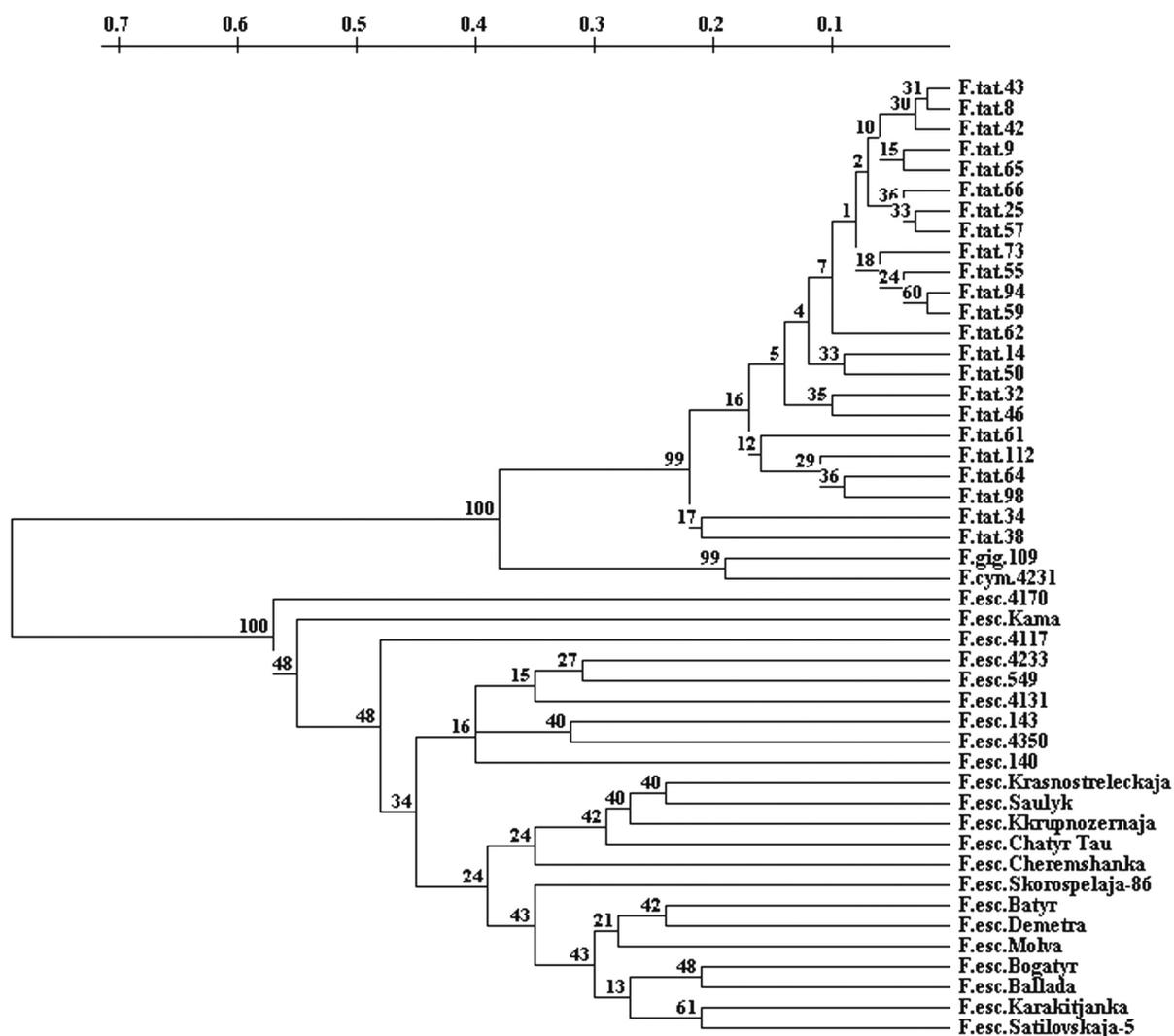


Рис. 1. Дендрогрaмма генетических различий 47 представителей 4 видов рода *Fagopyrum*, построенная с использованием метода UPGMA на основе данных RAPD-анализа. В узлах ветвей индексы бутстрепа (в %)

гречиши, могут указывать на закрепление в геноме исследованного образца вида *F. giganteum*, по всей видимости, лишь отдельных фрагментов генома родительского вида *F. tataricum*.

Гипотеза о роли *F. cymosum* как предполагаемого предка вида *F. esculentum* (цит. по Campbell, 1997), согласно данным проведенного RAPD-маркирования, скорее всего, несостоятельна. Несмотря на морфо-биологическое сходство *F. cymosum* и *F. esculentum*, рассчитанные коэффициенты генетических различий в парах *F. cymosum* — *F. tataricum* (0,17–0,23), *F. cymosum* — *F. esculentum* (0,33–0,47) показывают, что эти два вида лишь отдаленно родственны. Ряд работ, основывающийся на молекулярном анализе как хлоропластной, так и ядерной ДНК видов гречиши, также подтверждают, что *F. cymosum* генетически более близок к виду *F. tataricum*, чем к *F. esculentum* (Kishima et al., 1995; Yasui, Ohnishi, 1998 a, b; Кадырова и др., неопубликованные данные). Аналогично,

недавний анализ нуклеотидной варибельности локусов хлоропластной ДНК показал, что *F. tataricum* формирует монофилетичную группу, объединяясь с кладой тибетско-гималайских популяций *F. cymosum*, поддерживая возможность происхождения *F. tataricum* от *F. cymosum* (Yamane et al., 2003). В свою очередь, одним из наиболее вероятных предков *F. esculentum*, считается недавно описанный подвид *F. esculentum* subsp. *ancestrale* (Ohnishi, 1991; Campbell, 1976, цит. по Campbell, 1997; Kishima et al., 1995; Ohnishi, Matsuoka, 1996; Yasui, Ohnishi, 1998; Yamane et al., 2003).

Проведенный кластерный и факторный PCA анализы представителей рода *Fagopyrum* выявили четкую видовую дифференциацию *F. tataricum* и *F. esculentum*, разделив исследованные образцы на две основные группы, поддерживаемые максимальными индексами бутстрепа (ИБ 99 и 100 %) (рис. 1). С группой *F. tataricum*, так же с высоким ИБ, объеди-

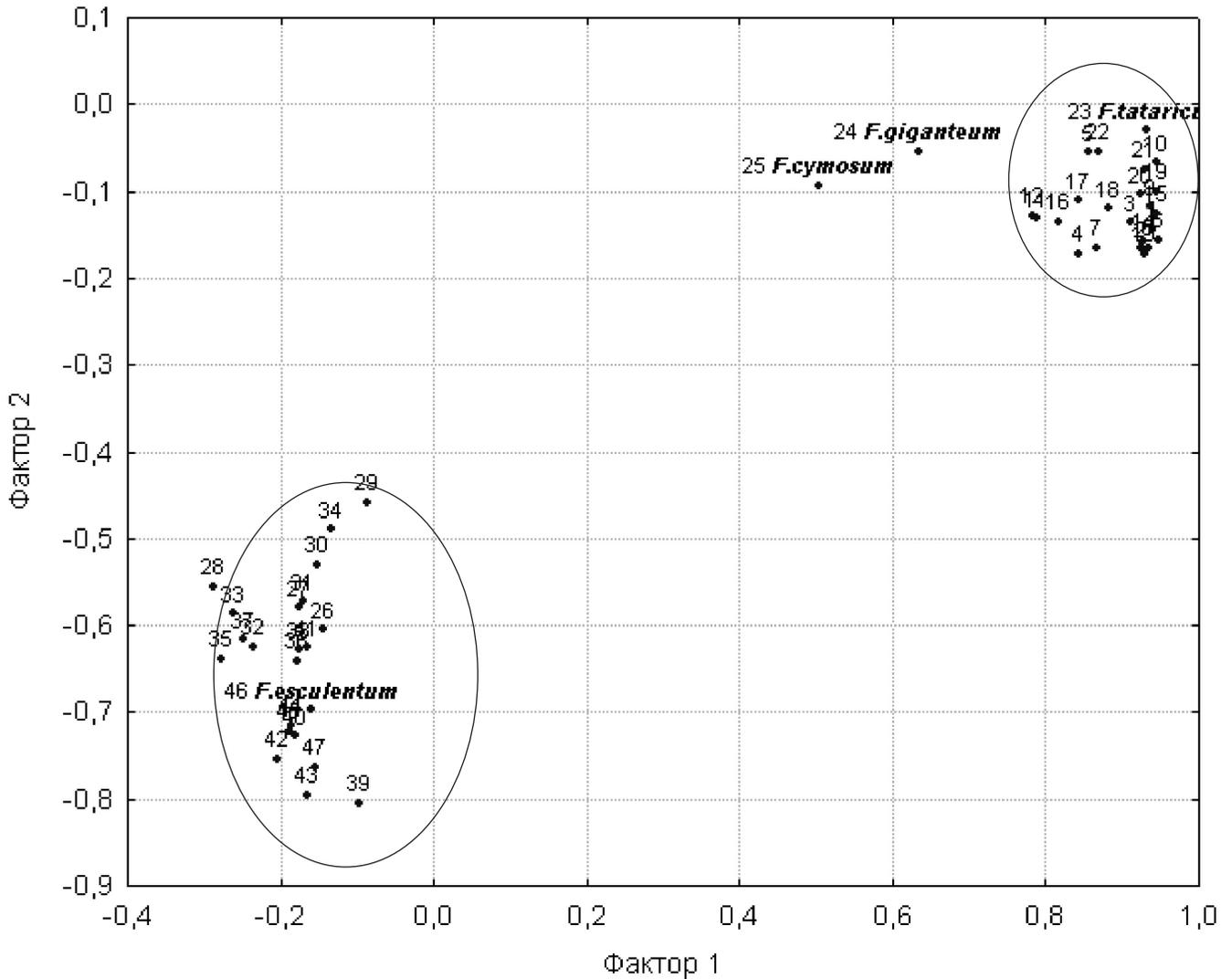


Рис. 2. Дифференциация представителей 4 видов гречихи *F. esculentum*, *F. tataricum*, *F. giganteum* и *F. cymosum*, выявленная в результате анализа основных факторов (PCA).

нялась группа *F. cymosum* и *F. giganteum*, тем самым, указывая на сходство геномов и общность происхождения всех трех видов гречихи.

На графике основных факторов и дендрограмме (рис. 1, 2) видно, что уровни внутривидового разнообразия *F. tataricum* и *F. esculentum* существенно различаются. Группа *F. tataricum* характеризуется сравнительно большей компактностью. Представители *F. esculentum* формируют более разнородную группу с сортовыми подгруппами разной степени геномного сходства.

Вместе с тем, никакой ярко выраженной дифференциации, которая бы соответствовала географии, агроэкологическим характеристикам, а также происхождению образцов как внутри группы *F. esculentum*, так и *F. tataricum* выявлено не было. Межсортовые группировки Батыр-Деметра-Молва, Богатырь-Баллада, Шатиловская 5-Каракитянка, а также Краснострелецкая-Саулык-Казанская крупнозерная — Чатыр

Тау поддерживались низкими значениями бутстрепа $< 50\%$, что может быть объяснено тем, что селекции подвергалась только определенная группа генов, а не весь анализируемый геном.

Таким образом, в результате проделанной работы были установлены уровни геномного разнообразия сортов и образцов двух культурных видов гречихи *F. esculentum* и *F. tataricum*. Впервые было показано, что уровень геномного полиморфизма *F. esculentum* (0,10–0,33) значительно выше, чем внутривидовое разнообразие *F. tataricum* (0,01–0,15). Впервые был оценен уровень сортового полиморфизма отечественных сортов гречихи. Было установлено, что отечественные сорта *F. esculentum* характеризуются высоким уровнем геномного полиморфизма (0,10–0,29), сравнимым с разнообразием дикорастущих форм этого вида гречихи. Полученные сортоспецифичные фрагменты и данные о межсортовых геномных различиях могут быть исполь-

зованы для последующего подбора родительских форм в скрещиваниях и идентификации растений исследованных сортов. Выявленный уровень межвидовых различий показал сравнительно большее сходство геномов *F. giganteum* и *F. cymosum*, что указывает на закрепление в геноме исследованного образца гибридного вида, по всей видимости, лишь отдельных фрагментов генома родительского вида *F. tataricum*.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 07-04-01123, Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» ГК-02.512.11.2099.

Литература

1. Алексеева Е. С., Елагин И. Н., Тараненко Л. К. и др., 2005. История культуры, ботанические и биологические особенности. Каменец-Подольский, 189 с.
2. Комаров В. Л., 1938. Происхождение культурных растений. М.-Л., 205 с.
3. Кротов А. Н., 1975. Гречиха — *Fagopyrum* Mill. // Культурная флора СССР. Крупяные культуры (гречиха, просо, рис). Т. 3 Л., С. 7–118.
4. Лаханов А. П., Коломейченко В. В., Фесенко Н. В. и др., 2004. Морфофизиология и продукционный процесс гречихи. Орел, 433 с.
5. Столетова Е. А. 1958. Гречиха. М.-Л., С. 1–226.
6. Суворова Г.Н., Фунатсуки Х., Терами Ф., 1999. Филогенетическое родство некоторых сортов, видов и гибридов рода *Fagopyrum* Mill., установленное на основе RAPD-анализа // Генетика. Т. 35. № 12. С. 1659–1664.
7. Campbell C. G., 1997. Buckwheat. *Fagopyrum esculentum* Moench // Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben, International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 94 p.
8. Edwards K., Johnstone C., Thompson C., 1991. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis // Nuc. Acid Res. Vol. 19. N 6. P. 1349.
9. Hirose T., Ujihara A., Kitabayashi H., Minami M., 1993. Morphology and identification by isozyme analysis of interspecific hybrids in buckwheats // *Fagopyrum*. Vol. 13. P. 25–30.
10. Iwata H., Imon K., Tsumura Y., Ohsawa R., 2005. Genetic diversity among Japanese indigenous common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) cultivars as determined from amplified fragment length polymorphism and simple sequence repeat markers and quantitative agronomic traits // *Genome*. Vol. 48. P. 367–377.
11. Kawasaki M., Ohnishi O., 2006. Two distinct groups of natural populations of *Fagopyrum uriphyllum* (Bur. et Franch.) Gross. revealed by the nucleotide sequence of a noncoding region in chloroplast DNA // *Genes Genet. Syst.* Vol. 81. P. 323–332.
12. Kishima Y. K., Mizukami O. K., Mikami T., Adachi T., 1995. Chloroplast DNA-analysis in buckwheat species: phylogenetic relationships, origin of reproductive systems and extended inverted repeats // *Plant Science*. Vol. 108. P. 173–179.
13. Konishi T., Yasui Y., Ohnishi O., 2005. Original birthplace of cultivated common buckwheat inferred from genetic relationships among cultivated populations and neutral populations of wild common buckwheat revealed by AFLP analysis // *Genes Genet. Syst.* Vol. 80. P. 113–119.
14. Murai M. Ohnishi O., 1996. Population genetics of cultivated common buckwheat, *Fagopyrum esculentum* Moench. X. diffusion routes revealed by RAPD markers // *Genes Genet. Syst.* Vol. 71. P. 211–218.
15. Ohnishi O., 1991. Discovery of the wild ancestor of common buckwheat // *Fagopyrum*. Vol. 11. P. 5–10.
16. Ohnishi O., Matsuoka Y., 1996. Search for the wild ancestor of buckwheat II. Taxonomy of *Fagopyrum* (Polygonaceae) species based on morphology, isosymes and cpDNA variability // *Genes and Genetic Systems*. Vol. 72. P. 383–390.
17. Ohnishi O., 1998. Search for the wild ancestor of buckwheat. I. Description of new *Fagopyrum* (Polygonaceae) species and their distribution in China and Himalayan hills // *Fagopyrum*. Vol. 15. P. 18–28.
18. Ohsako T., Yamane K., Ohnishi O., 2002. Two new *Fagopyrum* (Polygonaceae) species *F. gracilipedoides* and *F. jinshaense* from Yunnan, China // *Genes and Genetic Systems*. Vol. 77. P. 339–408.
19. Sharma T. R., Jana S., 2002. Species relationships in *Fagopyrum* revealed by PCR-based DNA fingerprinting // *Theor Appl Genet*. Vol. 105. P. 306–312.
20. Tsuji K., Ohnishi O., 2001. Phylogenetic relationships among wild and cultivated Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaert.) populations revealed by AFLP analyses // *Genes Genet. Syst.* Vol. 76. P. 47–52.
21. Van de Peer Y., De Wachter R., 1994. TREECON for Windows: a software package for the construction and drawing of evolutionary trees for the Microsoft Windows environment // *Comput. Appl. Biosci.* Vol. 10. P. 569–570.
22. Yamane K., Yasui Y., Ohnishi O., 2003. Intraspecific cpDNA variations of diploid and tetraploid perennial buckwheat, *Fagopyrum cymosum* (Polygonaceae) // *American Journal of Botany*. Vol. 90. N 3. P. 339–346.
23. Yasui Y., Ohnishi O., 1998a. Phylogenetic relationships among *Fagopyrum* species revealed by nucleotide sequences of the ITS region of the nuclear rRNA gene // *Genes and Genetic Systems*. Vol. 73. P. 201–210.
24. Yasui Y., Ohnishi O., 1998b. Interspecific relationships in *Fagopyrum* (Polygonaceae) revealed by the nucleotide sequences of the *rbcL* and *accD* genes and their intergenetic region // *American Journal of Botany*. Vol. 85. P. 1134–1142.

25. Ujihara A. Y., Nakamura Y., Minami M., 1990. Inter-specific hybridization in genus *Fagopyrum*—Properties of hybrids (*F. esculentum* and *F. cymosum*) through ovule culture // Gamma Field Symposia. Vol. 29. P. 45–33.

RAPD-analysis of *Fagopyrum* species and cultivars genome polymorphism

G. D. Kadyrova, F. Z. Kadyrova, N. N. Ryzhova, E. Z. Kochieva

✿ **SUMMARY:** RAPD-analysis of biodiversity in cultivated annual buckwheat species *Fagopyrum esculentum*, *F. tataricum*

and related species *F. giganteum* and *F. cymosum* has been performed. Close relationship between *F. cymosum*, *F. giganteum* и *F. tataricum* has been confirmed. Intraspecific genome variability of *F. tataricum* accessions (0,01–0,15) is lower than in *F. esculentum* (0,10–0,33). For the first time genetic diversity in Russian buckwheat cultivars has been investigated. The high level of genomic polymorphism in *F. esculentum* cultivars (0,10–0,29) that is comparable to the variability in natural populations is shown.

✿ **KEY WORDS:** buckwheat; RAPD-method; biodiversity; intra- and interspecific polymorphism

Информация об авторах:

Кадырова Гузель Дамировна, ГНУ Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства, 420059, Казань, Оренбургский тракт, 48. E-mail: guzel_asd@rambler.ru.

Кадырова Фануся Загитовна, зав. отделом селекции крупяных культур, ГНУ Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства, 420059, Казань, Оренбургский тракт, 48. E-mail: fanusa51@rambler.ru.

Рыжова Наталья Николаевна, младший научный сотрудник, Центр «Биоинженерия» РАН, 117312, Москва, ул. 60-летия Октября, д. 7, корп. I. E-mail: gynatalia@yandex.ru.

Кочиева Елена Зауровна, старший научный сотрудник, Центр «Биоинженерия» РАН, 117312, Москва, ул. 60-летия Октября, д. 7, корп. I. E-mail: ekochieva@yandex.ru.