

БИОТЕХНОЛОГИЯ И СЕЛЕКЦИЯ РАСТЕНИЙ

4(1), 2021



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ВСЕРОССИЙСКИЙ ИНСТИТУТ ГЕНЕТИЧЕСКИХ
РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ ИМЕНИ Н.И. ВАВИЛОВА (ВИР)



THE MINISTRY OF SCIENCE AND HIGHER
EDUCATION OF THE RUSSIAN FEDERATION
FEDERAL RESEARCH CENTER
THE N.I. VAVILOV ALL-RUSSIAN INSTITUTE OF
PLANT GENETIC RESOURCES (VIR)

НАУЧНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

БИОТЕХНОЛОГИЯ И СЕЛЕКЦИЯ РАСТЕНИЙ

2021, 4(1)

ОСНОВАН В 2018 ГОДУ
ПЕРИОДИЧНОСТЬ 4 РАЗА В ГОД

*Для биотехнологов, селекционеров, генетиков,
преподавателей вузов биологического
и сельскохозяйственного профиля.*

e-mail: pbi@vir.nw.ru

190000 Россия, г. Санкт-Петербург,
ул. Б. Морская, 42, 44

© Федеральный исследовательский центр
Всероссийский институт генетических ресурсов
растений имени Н.И. Вавилова (ВИР)

DOI: 10.30901/2658-6266-2021-1
УДК: 573.6:631.527

ПИ № ФС 77–74475
ISSN: 2658-6266 (Print)
ISSN: 2658-6258 (Online)

SCIENTIFIC PEER REVIEWED JOURNAL

PLANT BIOTECHNOLOGY AND BREEDING

2021, 4(1)

FOUNDED IN 2018
PUBLISHED 4 TIMES ANNUALLY

*Addressed to biotechnologists, geneticists,
plant breeders and lecturers of biological
and agricultural universities and colleges.*

e-mail: pbi@vir.nw.ru

42, 44 Bolshaya Morskaya Street,
St. Petersburg 190000, Russia

© Federal Research Center
the N.I. Vavilov All-Russian Institute
of Plant Genetic Resources (VIR)

Используемые на обложке фотографии:

Ягоды ремонтантного сорта малины 'Антей' и посадочный материал этого сорта на этапе субкультивирования и адаптированный *in vivo* (см. статью - Подорожный В.Н., Пиянина Н.А., 2021)

On the Cover:

Raspberries of the Remontant Variety 'Antey' and the Planting Material of this Variety at the Sub-Cultivation Stage and Adapted *in vivo* (see the Article of Podorozhnyi V.N., Piyagina N.A., 2021)

Главный редактор:

Е. К. Хлесткина – д.б.н., профессор РАН.

Заместитель главного редактора:

Т. А. Гавриленко – д.б.н.

Ответственные секретари:

И. Н. Анисимова – д.б.н.

Л. Ю. Новикова – д.с.-х.н.

Редакционный совет:

О. С. Афанасенко – д.б.н., академик РАН (Россия)
Г. А. Баталова – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)
Р. К. Берсимбаев – д.б.н., академик НАН РК (Казахстан)
Л. А. Беспалова – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)
А. И. Грабовец – д.с.-х.н., чл.-корр. РАН (Россия)
С. И. Гриб – д.с.-х.н., академик НАНБ (Беларусь)
Е. А. Егоров – д.э.н., академик РАН (Россия)
В. Г. Еремин – д.с.-х.н., профессор РАН (Россия)
Г. В. Еремин – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)
Г. И. Карлов – д.б.н., чл.-корр. РАН (Россия)
А. В. Кильчевский – д.б.н., академик НАНБ (Беларусь)
Э. А. Козловская – д.с.-х.н. (Беларусь)
Н. А. Колчанов – д.б.н., академик РАН (Россия)
В. Н. Корзун – д-р (Германия)
А. В. Кочетов – д.б.н., чл.-корр. РАН (Россия)
Н. В. Кухарчик – д.с.-х.н. (Беларусь)
В. М. Лукомец – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)
Л. А. Лутова – д.б.н. (Россия)
С. Мишева – д-р (Болгария)
А. И. Моргунов – д-р (Турция)
В. Ройчев – д.с.-х.н. (Болгария)
А. А. Романенко – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)
А. В. Рындин – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)
Е. Н. Седов – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)
И. А. Тихонович – д.б.н., академик РАН (Россия)
П. Н. Харченко – д.б.н., академик РАН (Россия)
Л. В. Хотылева – д.б.н., академик НАНБ (Беларусь)
В. К. Шумный – д.б.н., академик РАН (Россия)

Редакционная коллегия:

Е. Е. Андронов – к.б.н. (Россия)
Д. А. Афонников – к.б.н. (Россия)
А. Х. Баймиев – д.б.н. (Россия)
И. А. Белан – к.с.-х.н. (Россия)
А. Г. Беседин – к.с.-х.н. (Россия)
М. А. Вишнякова – д.б.н. (Россия)
В. А. Гаврилова – д.б.н. (Россия)
С. В. Гаркуша – д.с.-х.н. (Россия)
Т. А. Гасанова – к.с.-х.н. (Россия)
С. В. Герасимова – к.б.н. (Россия)
М. С. Гинс – д.б.н., чл.-корр. РАН (Россия)
С. В. Гончаров – д.б.н. (Россия)
Р. О. Давоян – д.б.н. (Россия)
Я. Н. Демурич – д.б.н. (Россия)
М. Г. Дивашук – к.б.н. (Россия)
С. Н. Еланский – д.б.н. (Россия)
О. В. Еремина – д.с.-х.н. (Россия)
А. П. Ермишин – д.б.н. (Беларусь)
М. В. Ефимова – к.б.н. (Россия)
Р. Ш. Заремук – д.с.-х.н. (Россия)
С. В. Зеленцов – д.с.-х.н., чл.-корр. РАН (Россия)
Е. Т. Ильницкая – к.б.н. (Россия)
Р. Н. Календарь – к.б.н. (Казахстан)
Н. Н. Карпун – к.б.н. (Россия)
В. С. Ковалев – д.с.-х.н. (Россия)
Н. Н. Коваленко – д.б.н. (Россия)
Е. З. Кочиева – д.б.н. (Россия)
Б. Р. Кулуев – д.б.н. (Россия)
К. У. Куркиев – д.б.н. (Россия)
С. В. Кушнаренко – к.б.н. (Казахстан)
И. Н. Леонова – д.б.н. (Россия)
И. Е. Лихенко – д.с.-х.н. (Россия)
В. В. Лиховской – д.с.-х.н. (Россия)
П. Н. Мальчиков – д.с.-х.н. (Россия)
Т. В. Матвеева – д.б.н. (Россия)
Н. В. Мироненко – д.б.н. (Россия)
И. В. Митрофанова – д.б.н. (Россия)
Е. И. Михайлова – д.б.н. (Россия)
С. В. Осипова – д.б.н. (Россия)
В. Н. Подорожный – к.с.-х.н. (Россия)
Т. Г. Причко – д.с.-х.н. (Россия)
Т. А. Рожмина – д.б.н. (Россия)
А. В. Смыков – д.с.-х.н. (Россия)
А. А. Соловьев – д.б.н., профессор РАН (Россия)
И. И. Супрун – к.б.н. (Россия)
Е. К. Турусупеков – к.б.н. (Казахстан)
Е. В. Ульяновская – д.с.-х.н. (Россия)
О. Ю. Урбанович – д.б.н. (Беларусь)
Ю. В. Фотев – к.с.-х.н. (Россия)
Э. Б. Хатефов – д.б.н. (Россия)
Я. А. Цепилов – к.б.н. (Россия)
М. Н. Шаптуренко – д.б.н. (Беларусь)
О. Ю. Шоева – к.б.н. (Россия)
Л. А. Эльконин – д.б.н. (Россия)
Г. В. Якуба – к.б.н. (Россия)

Editor-in-Chief:

E. K. Khlestkina – Dr. Sci. in Biol., Professor.

Deputy Editor-in-Chief:

T. A. Gavrilenko – Dr. Sci. in Biol.

Executive Secretaries:

I. N. Anisimova – Dr. Sci. in Biol.

L. Yu. Novikova – Dr. Sci. in Agricul.

Editorial council:

O. S. Afanasenko – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the RAS (Russia)
G. A. Batalova – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)
R. K. Bersimbaev – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the NAS RK (Kazakhstan)
L. A. Bespalova – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)
E. A. Egorov – Dr. Sci. in Econ., Full Member of the RAS (Russia)
G. V. Eremin – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)
V. G. Eremin – Dr. Sci. in Agricul., Professor (Russia)
A. I. Grabovets – Dr. Sci. in Agricul., Corr. Member of the RAS (Russia)
S. I. Grib – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the NAS of Belarus (Belarus)
G. I. Karlov – Dr. Sci. in Biol., Corr. Member of the RAS (Russia)
P. N. Kharchenko – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the RAS (Russia)
L. V. Khotyleva – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the NAS of Belarus (Belarus)
A. V. Kilchevsky – Dr. Sci. in Biol., Corr. Member of the NAS of Belarus (Belarus)
A. V. Kochetov – Dr. Sci. in Biol., Corr. Member of the RAS (Russia)
N. A. Kolchanov – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the RAS (Russia)
V. N. Korzun – Dr. (Germany)
Z. A. Kozlovskaya – Dr. Sci. in Agricul. (Belarus)
N. V. Kukharchik – Dr. Sci. in Agricul. (Belarus)
V. M. Lukomets – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)
L. A. Lutova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
S. Misheva – Dr. (Bulgaria)
A. I. Morgunov – Dr. (Turkey)
A. A. Romanenko – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)
A. V. Ryndin – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)
V. Roychev – Dr. Sci. in Agricul. (Bulgaria)
E. N. Sedov – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)
V. K. Shumny – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the RAS (Russia)
I. A. Tikhonovich – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the RAS (Russia)

Editorial board:

D. A. Afonnikov – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
E. E. Andronov – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
A. H. Bajmiev – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
I. A. Belan – Cand. Sci. in Agricul. (Russia)
A. G. Besedin – Cand. Sci. in Agricul. (Russia)
R. O. Davoyan – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
Ya. N. Demurin – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
M. G. Divashuk – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
M. V. Efimova – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
S. N. Elansky – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
L. A. Elkonin – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
O. V. Eremina – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
A. P. Ermishin – Dr. Sci. in Biol. (Belarus)
Yu. V. Fotev – Cand. Sci. in Agricul. (Russia)
S. V. Garkusha – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
T. A. Gasanova – Cand. Sci. in Agricul. (Russia)
V. A. Gavrilova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
S. V. Gerasimova – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
M. S. Gins – Dr. Sci. in Biol., Corr. Member of the RAS (Russia)
S. V. Goncharov – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
E. T. Ilnitskaya – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
R. N. Kalendar – Cand. Sci. in Biol. (Kazakhstan)
N. N. Karpun – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
E. B. Khatefov – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
E. Z. Kochieva – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
N. N. Kovalenko – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
V. S. Kovalev – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
B. R. Kuluev – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
K. U. Kurkiev – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
S. V. Kushnarenko – Cand. Sci. in Biol. (Kazakhstan)
I. N. Leonova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
I. E. Lihenko – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
V. V. Likhovskoi – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
P. N. Malchikov – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
T. V. Matveeva – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
N. V. Mironenko – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
I. V. Mitrofanova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
E. I. Mikhailova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
S. V. Osipova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
V. N. Podorozhniy – Cand. Sci. in Agricul. (Russia)
T. G. Prichko – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
T. A. Rozhmina – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
M. N. Shapturenko – Dr. Sci. Biology (Belarus)
O. Yu. Shoeva – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
A. V. Smykov – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
A. A. Soloviev – Dr. Sci. in Biol., Professor (Russia)
I. I. Suprun – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
Ya. A. Tsepilov – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
E. K. Turuspekov – Cand. Sci. in Biol.
E. V. Ulyanovskaya – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
O. Yu. Urbanovich – Dr. Sci. in Biol. (Belarus)
M. A. Vishnyakova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
G. V. Yakuba – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
R. Sh. Zaremuk – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
S. V. Zelentsov – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)

СОДЕРЖАНИЕ

ОТ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА 4

Хлесткина Е. К.

ВСТУПИТЕЛЬНАЯ СТАТЬЯ

РАЗВИТИЕ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ СЕЛЕКЦИИ 5

Попов В.С., Перчук И.Н., Хорева В.И.

ГРАВИМЕТРИЧЕСКИЙ
МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО
ОПРЕДЕЛЕНИЯ РАСТВОРИМЫХ
β-ГЛЮКАНОВ В ЗЕРНЕ ОВСА

МЕТОДЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В СЕМЕНОВОДСТВЕ И СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ 13

Подорожний В.Н., Пианина Н.А.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ
СОТИМЕНТА РЕМОНТАННОЙ
МАЛИНЫ ДЛЯ СЕВЕРО-
КАВКАЗСКОГО РЕГИОНА РФ
НА ОСНОВЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
БИОЛОГИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА
КОЛЛЕКЦИЙ ВИР

Коваленко Н.Н., Поливара Н.В.

ВЛИЯНИЕ СРОКОВ ИЗОЛЯЦИИ
ЗАРОДЫШЕЙ НА ВЫХОД СЕЯНЦЕВ
СОРТОВ ВИШНИ ОБЫКНОВЕННОЙ
ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ *IN VITRO*.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ 36

Хафизова Г.В., Матвеева Т.В.

ГЕН *rolC* АГРОБАКТЕРИЙ:
НА ПУТИ К ПОНИМАНИЮ
ФУНКЦИИ

CONTENTS

FROM THE EDITOR IN CHIEF 4

Khlestkina E. K.

INTRODUCTORY ARTICLE

DEVELOPMENT OF MODERN BREEDING METHODS 5

Popov V.S., Perchuk I.N., Khoreva V.I.

A GRAVIMETRIC METHOD FOR THE
QUANTITATIVE DETERMINATION
OF SOLUBLE β-GLUCAN CONTENT
IN OAT GRAIN

BIOTECHNOLOGY TECHNIQUES IN SEED PRODUCTION AND PLANT BREEDING 13

Podorozhnyi V.N., Piyagina N.A.

IMPROVING THE PERPETUAL
RASPBERRY ASSORTMENT FOR
THE NORTH CAUCASIAN REGION
OF THE RUSSIAN FEDERATION BY
DRAWING ON THE BIOLOGICAL
POTENTIAL OF VIR COLLECTIONS

Kovalenko N.N., Polivara N.V.

EFFECT OF THE TIMING OF
EMBRYO ISOLATION ON THE
OUTPUT OF SEEDLINGS OF SOUR
CHERRY VARIETIES WHEN
CULTIVATED *IN VITRO*

GENETIC BASIS OF BIOTECHNOLOGY 36

Khafizova G.V., Matveeva T.V.

THE *rolC* GENE OF AGROBACTERIA:
TOWARDS THE UNDERSTANDING
OF ITS FUNCTIONS.



Уважаемые читатели!

Подходы современной биологии, биохимии и биотехнологии растений комплексно направлены на улучшение здоровья и качества жизни населения. Это достигается путем совершенствования генотипов различных культур по их качественным характеристикам, по составу и количеству биологически активных веществ (БАВ), адаптации к стрессовым факторам. Важное значение имеет развитие технологий ускоренной селекции ценных для здорового питания зерновых, овощных, плодовых и ягодных культур. В настоящем номере мы представляем результаты разносторонних экспериментальных и теоретических исследований, которые в той или иной степени служат эффективному развитию данного направления.

В работе В.С. Попова с соавторами представлено описание гравиметрического метода количественного определения растворимых β -глюканов в зерне овса. Эффективность поиска источников высокого содержания тех или иных БАВ в богатом генофонде растительных культур зависит не только от точности метода, но и от его производительности, которая напрямую влияет на возможность проведения масштабных скринингов генетических ресурсов растений за короткий промежуток времени. Представленный метод в полной мере отвечает этим требованиям и может быть рекомендован для изучения больших выборок образцов в генетических исследованиях и при реализации программ по селекции зерновых культур.

Содержание БАВ в тканях растений может возрастать под действием широкого спектра факторов. Наибольшую перспективу для стабильного получения растительного материала с высоким содержанием БАВ представляют подходы, основанные на применении наследуемых факторов. В связи с этим интересен механизм действия гена *rolC*, одного из генов так называемого «корневого локуса», передаваемого растениям от почвенной бактерии *Agrobacterium rhizogenes* Conn в процессе агротрансформации. Одним из плеiotропных действий этого гена оказывается влияние на синтез ряда вторичных метаболитов. Обзорная статья Г.В. Хафизовой и Т.В. Матвеевой суммирует сведения, накопленные о гене *rolC*, влиянии этого гена на гормональную систему растений, их архитектуру, скорость развития, устойчивость к стрессовым факторам, а также о его действии, приводящем к повышению содержания определенных вторичных метаболитов. Дальнейшее раскрытие механизмов этого плеiotропного действия, определение сигнальных путей, посредством которых оказывается влияние, представляет собой основу для последующего моделирования и внесения наследственных изменений, позволяющих улучшать потребительские свойства растительного сырья.

Важными источниками витаминов и различных БАВ являются плодовые и ягодные культуры, сортимент которых постоянно обновляется и расширяется. Однако от начала создания новых улучшенных сортов этих культур до их появления на столе потребителя проходит много времени. В связи с этим актуальными являются технологии ускоренной селекции и ускоренного размножения новых сортов. Так, в работе В.Н. Подорожного и Н.А. Пияниной представлен подход, применение которого даст возможность получить достаточное количество саженцев малины ремонтантного типа для закладки участков производственного сортоиспытания в течение одного-двух лет после введения в культуру. Это, в свою очередь, ускоряет внедрение новых сортов в производство. В работе Н.Н. Коваленко и Н.В. Поливарова решен вопрос ускорения ввода в культуру зародышей сортов вишни. Даны рекомендации, которые позволяют сократить процесс селекции этой культуры на 1,5 года.

Таким образом, выпуск представляет комплекс новых и/или улучшенных подходов, которые на разных этапах продовольственной цепочки (пребридинг, селекция, получение посадочного материала) позволят более эффективно развивать актуальное направление селекции, в фокусе которого находятся здоровье и качество жизни населения.

*Главный редактор,
д.б.н., профессор РАН
Хлесткина Е.К.*

ГРАВИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ РАСТВОРИМЫХ β -ГЛЮКАНОВ В ЗЕРНЕ ОВСА

Попов В.С.*, Перчук И.Н., Хорева В.И.

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, д. 42, 44;

*✉ v.popov@vir.nw.ru

Актуальность. Овес посевной (*Avena sativa* L.) является одним из важнейших источников белка, масла, крахмала и пищевых волокон, в частности β -глюканов. Пищевые волокна служат источником питания для микрофлоры кишечника и существенно влияют не только на ее состав, но и на процессы нормального функционирования кишечника в целом. В связи с возросшим интересом к β -глюкану как компоненту пищи и биологически-активной добавке возникает необходимость в наличии удобного и недорогого метода определения содержания β -глюканов в зерне. В статье дается обзор существующих методов выделения и определения растворимых β -глюканов в злаковых: ферментативного, щелочного, щелочно-ферментативного, колориметрического; отмечены их достоинства и недостатки. Основными недостатками некоторых методов являются сложность и длительность выполнения, значительная стоимость используемых реагентов, отсутствие возможности определения точного содержания β -глюканов из-за недостаточной очистки их от различных примесей. **Результаты.** В данном исследовании на примере голозерных и пленчатых сортов овса рассмотрена возможность использования гравиметрического метода, разработанного на основе модифицированного нами щелочного метода. Измельченные зерна овса предварительно обрабатывали 50% раствором этанола для инактивации β -глюканазы и удаления свободных сахаров, части липидов, белков и других веществ. Высвобождение β -глюканов из алейронового слоя и эндосперма муки проводили 5% раствором NaOH и окончательную экстракцию осуществляли 70% раствором этилового спирта. β -глюканы всплывали на поверхность в виде сгустка волокон, который затем высушивали при температуре 100-102°C до постоянной массы и взвешивали. Содержание β -глюканов рассчитывали на сухую навеску (%). Выделенные β -глюканы исследовали на наличие сопутствующих веществ: содержание азотистых веществ определяли по методу Къельдаля, наличие крахмала определяли по качественной реакции с реактивом Люголя. **Заключение.** Содержание β -глюканов в зерне изученных образцов составило от 3,12±0,18% до 4,65±0,17% на сухой вес. В результате проведенного исследования были подобраны оптимальные условия выделения β -глюканов: установлены соотношения экстрагирующих смесей, режимы центрифугирования, осаждения и сушки. Показано, что данный метод позволяет выделять β -глюканы при минимальной примеси азотистых веществ (0,07-0,12%) и отсутствии следов крахмала. Одним из преимуществ описанного метода является его доступность для массового анализа при изучении коллекции зерновых культур.

Ключевые слова: *Avena sativa*, некрахмальные полисахариды, щелочной метод, гравиметрический метод, голозерный овёс, пленчатый овёс.

Для цитирования: Попов В.С., Перчук И.Н., Хорева В.И. Гравиметрический метод количественного определения растворимых β -глюканов в зерне овса. *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(1):5-12. DOI: 10.30901/2658-6266-2021-1-01

Прозрачность финансовой деятельности. Автор не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. **Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.** **Дополнительная информация.** Полные данные этой статьи доступны <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-1-01> **Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы. Все авторы одобрили рукопись. Конфликт интересов отсутствует.**

A GRAVIMETRIC METHOD FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF SOLUBLE β -GLUCAN CONTENT IN OAT GRAIN

Popov V.S.*, Perchuk I.N., Khoreva V.I.

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources,
42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia;

*✉ v.popov@vir.nw.ru

Background. Oat (*Avena sativa* L.) is one of the most important sources of protein, oil, starch and dietary fibers, in particular β -glucans. Dietary fiber serves as a source of nutrition for the intestinal microflora and significantly affects not only its composition, but also the normal functioning of the intestine as a whole. In connection with the increased interest in β -glucans as a food component and dietary supplement, there is a need in a convenient and inexpensive method for determination of β -glucans content in grain. The article provides an overview of the existing methods for the isolation and determination of soluble β -glucans in cereals: enzymatic, alkaline, alkaline-enzymatic, colorimetric; their advantages and disadvantages are noted. The main disadvantages of some methods are the complexity and duration of execution, significant cost of the required reagents, and the inability to determine the exact content of β -glucans due to their insufficient purification from various impurities. **Results.** This study used the example of naked and covered oat cultivars to demonstrate applicability of the gravimetric method that we developed by modifying the alkaline method. Whole grain oat flour was pretreated with a 50% ethanol solution to inactivate β -glucanase and remove free sugars, some lipids, proteins, and other substances. β -glucans were released from the aleurone layer and the endosperm with a 5% sodium hydroxide solution, and finally extracted with a 70% ethanol solution. β -glucans floated to the surface in the form of a bunch of fibers, which was then dried at a temperature about 100-102°C to constant weight and weighed. The content of β -glucans was calculated from the dry weight (%). The isolated β -glucans were checked for the presence of accompanying substances: the content of nitrogenous substances was determined by the Kjeldahl method, and the presence of starch was determined by a qualitative reaction with Lugol's reagent. **Conclusions.** The content of β -glucans in the grain of the studied samples ranged from 3.12±0.18 up to 4.65±0.17% of the dry weight. As a result of the study, the optimal conditions of β -glucans isolation were selected: the extraction mixtures ratios, as well as the modes of centrifugation, sedimentation and drying were established. It has been shown that this method makes it possible to isolate β -glucans with a minimum impurity of nitrogenous substances (0.07-0.12%) and no traces of starch. One of the advantages of the described method is its availability for mass analysis when studying a collection of grain crops.

Keywords: *Avena sativa*, non-starch polysaccharides, alkaline method, gravimetric analysis, naked oat, covered oat.

For citation: Popov V.S., Perchuk I.N., Khoreva V.I. A gravimetric method for the quantitative determination of soluble β -glucan content in oat grain. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(1):5-12. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-1-01

Financial transparency. The authors have no financial interest in the presented materials or methods. **The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. Additional information.** Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-1-01> **The journal's opinion is neutral to the presented materials, the author, and his or her employer. All authors approved the manuscript. No conflict of interest.**

ORCID:

Popov V.S. <https://orcid.org/0000-0003-3274-7662>

Perchuk I.N. <https://orcid.org/0000-0001-6568-5248>

Khoreva V.I. <https://orcid.org/0000-0003-2762-2777>

УДК 633.13:581.192

Поступила в редакцию: 21.01.2021

Принята к публикации: 11.02.2021

Введение

Зерно овса является одной из важнейших зерновых культур, используемой в пищевой и кормовой промышленности. Питательная ценность овса определяется его химическим составом: содержанием белка, крахмала, масла и наличием в масле ненасыщенных жирных кислот, присутствием основных минеральных элементов, разнообразных химических веществ, проявляющих антиоксидантные свойства и пищевых волокон, в частности β -гликоканов (Shewry et al., 2009). β -гликоканов представляют собой класс неперевариваемых полисахаридов, широко встречающихся в природе в таких источниках, как зерно, дрожжи, бактерии, водоросли и грибы (Brownlee, 2011; Gematdinova et al., 2017).

Наибольшее содержание β -гликоканов среди зерновых культур (г на 100 г сухого вещества) отмечено в ячмене – 2-20 г и овсе – 3-8 г. Другие злаки также содержат β -гликоканов, но в значительно меньших количествах: сорго – 1,1-6,2 г, рожь – 1,3-2,7 г, кукуруза – 0,8-1,7 г, тритикале – 0,3-1,2 г, пшеница – 0,5-1,0 г, рис – 0,13 г (Salomatov, 2015).

По растворимости в воде различают растворимые и нерастворимые β -гликоканов. Содержание нерастворимых β -гликоканов может составлять 30 и более процентов от сухого веса зерна, тогда как растворимых β -гликоканов значительно меньше, и в зависимости от разновидности овса составляет на сухой вес зерна в порядке убывания 3,9-7,5% для голозёрного овса, 3,0-3,9% для тёмного плёнчатого овса, 2,6-3,9% для жёлтого плёнчатого овса

и 2,0-4,1% для светлого плёнчатого овса (Gajdosova et al., 2007).

Наряду с другими нерастворимыми пищевыми волокнами (лигнин, нерастворимая клетчатка, некоторые гемицеллюлозы), нерастворимые β -гликоканов не подвергаются воздействию пищеварительных ферментов, поэтому не перевариваются и не усваиваются организмом (Dikeman, Fahey, 2006). Однако наибольший интерес представляют растворимые β -гликоканов. Они легче поддаются ферментации, более эффективно содействуют питанию и росту бактерий толстого кишечника, которые в свою очередь синтезируют витамины, ферменты и другие биологически активные вещества.

Из положительных сторон, связанных с употреблением продуктов богатых растворимыми β -гликоканов, необходимо отметить их способность предотвращать расщепление и переваривание части холестерина, поступающего с пищей, снижать в сыворотке концентрацию липопротеидов низкой плотности, стабилизировать уровень сахара в крови (глюкозы), а также уменьшать риск возникновения сердечно-сосудистых заболеваний (Porov et al., 2014; Regand et al., 2011). Это связывают с высокой вязкостью растворов β -гликоканов, что проявляется в их функциональных и физиологических эффектах (Wood, 2010). Также выявлено положительное влияние β -гликоканов на усвоение кормов и повышение иммунитета у сельскохозяйственных животных (Cherdthong et al., 2018).

Несмотря на положительную роль в питании, у β -гликоканов имеются и отрицательные свойства.

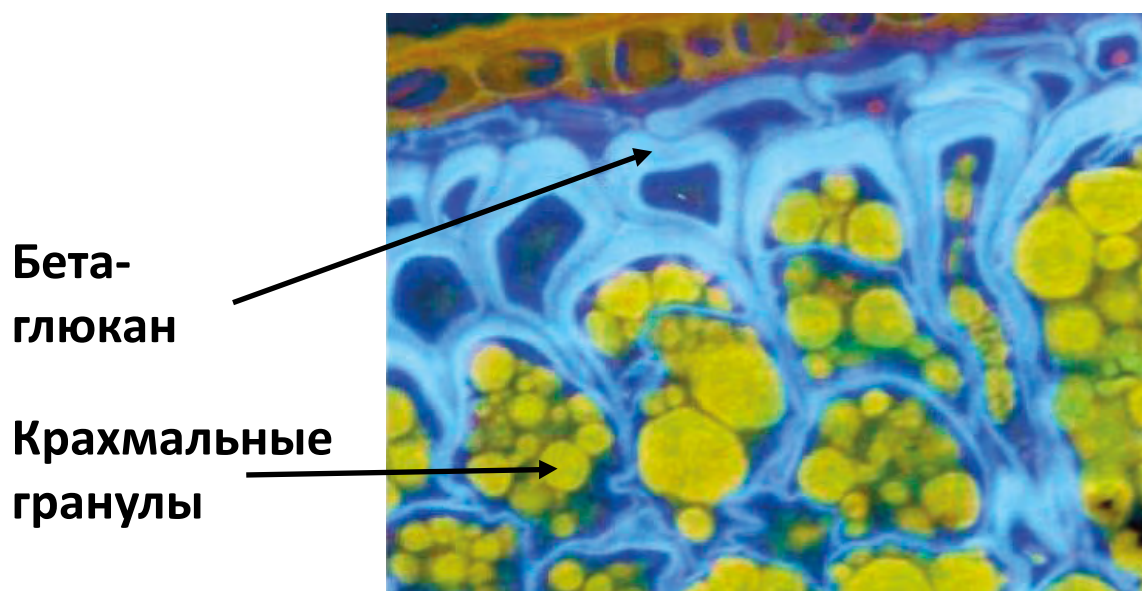


Рис. 1. Распределение β -гликоканов в зерне овса
(<https://www.sweoat.com/oat-beta-glucans>, с модификацией)

Fig. 1. Distribution of β -glucans in oat grain
(<https://www.sweoat.com/oat-beta-glucans>, with modification)

Предполагается, что, связывая ионы железа, β -глиуканы могут уменьшать его биологическую доступность (Faure et al., 2015). Для технологии пивоварения необходимо, чтобы солод (сусло) содержал как можно меньше β -глиуканов, поскольку они способствуют повышению вязкости суслу и пива, снижению их выхода, плохой фильтруемости. Кроме того, питательная ценность овса для нежвачных животных отрицательно коррелирует с содержанием пищевых волокон в зерновке (Svihus, Gullord, 2002).

Таким образом, необходимо отметить важность количественного определения β -глиуканов в различном зерновом сырье. Однако определение и получение чистого β -глиукана является сложным и дорогостоящим процессом, поскольку у зерновых он находится в связанном виде и сконцентрирован в основном в алейроновом и субалейроновом слое (рис. 1), где также содержится крахмал, белки и липиды (Bechtel et al., 2009).

Целью настоящей работы являлась разработка доступного и недорогого для массового анализа метода количественного определения β -глиуканов в зерне голозёрного и плёнчатого овса.

Материал и методы

В литературе обсуждается ряд методов определения β -глиуканов, среди которых наиболее широко применяемым является биофизический ферментативный метод с использованием лихеназы и β -глюкозидазы (Lee et al., 1997; McCleary, Codd, 1991). Однако данный метод доста-

точно трудоёмкий и требует проведения множества операций. Кроме того, стоимость набора реагентов, поставляемых компанией Megazyme, может оказаться довольно значительной, если требуется проанализировать большое количество образцов, что является не всегда оправданным для каждодневных и частых анализов.

Метод признан пригодным для точного, быстрого и экономичного определения β -глиуканов в семенах ячменя, овса, пшеницы, тритикале, люпина и других культур. В настоящее время изучается его потенциал в ближней инфракрасной области. Но данный метод требует настройки прибора, предварительного построения калибровочных кривых, полученных на большом объёме материала с использованием классических методов анализа (Blakeney et al., 2005; Schmidt et al., 2009).

Существует также колориметрический метод определения β -глиуканов с использованием флуоресцентного осветляющего агента калькофлуора белого (Tikanoja et al., 2014, European Patent EP2810051A1).

Интересным представляется метод извлечения β -глиуканов из зерна щелочным и двухступенчатым щелочно-ферментативным способом. В исследованиях (Salomatov, 2015; Gematdinova et al., 2017) рассматриваются принцип и основные этапы щелочного метода экстракции. Однако предложенные методы имеют ряд недостатков, связанных с большой продолжительностью анализа и отсутствием возможности точного определения содержания β -глиуканов из-за наличия сопутствующих веществ. В методе, описанном А.С. Саломатовым, выход

Таблица 1. Характеристика используемых в работе образцов овса

Table 1. Characters of oat accessions used in the work

| Название сорта/ Cultivar name | Форма овса/ Oat form | Ботаническая разновидность/ Botanical variety | Происхождение/ Origin |
|----------------------------------|--------------------------|---|--|
| Пушкинский Pushkinskii | Голозёрный Naked oat | <i>inermis</i> | Ленинградская обл. Leningrad Province |
| Вятский Vyatskii | | <i>inermis</i> | Кировская обл. Kirov Province |
| Голец Goletz | | <i>inermis</i> | Красноярский край Krasnoyarsk Territory |
| Тайдон Taidon | | <i>inermis</i> | Кемеровская обл. Kemerovo Province |
| Факир Fakir | Плёнчатый Covered oat | <i>aurea</i> | Кировская обл. Kirov Province |
| Лев Lev | | <i>mutica</i> | Московская обл. Moscow Province |
| Сапсан Sapsan | | <i>mutica</i> | Кировская обл. Kirov Province |
| Тубинский Tubinskii | | <i>mutica</i> | Красноярский край Krasnoyarsk Territory |

β-глюканов составлял 71,12%, при этом на долю примесей приходилось 28,88%. Кроме того, методы, предложенные авторами, были рассмотрены только на примере голозёрных сортов овса, тогда как значительная часть сортообразцов представлена плёнчатыми формами.

В данной работе приводится модификация щелочного метода, при этом оптимизированы основные этапы и параметры выделения β-глюканов; сокращено время проведения эксперимента, увеличен выход и чистота

Приборы и материалы, используемые для определения β-глюканов:

- центрифуга с охлаждением SL16R, (Thermo Fisher Scientific или аналогичная);
- рН-метр АНИОН-4100 (Анион или аналогичный);
- мельница лабораторная ЛМТ-1 (Плаун или аналогичная);
- реактивы: хлористоводородная кислота ХЧ; гидроксид натрия ХЧ; фосфорновольфрамовая кислота ХЧ; спирт этиловый ХЧ.

Овсяную муку получали методом прямого помола цельного зерна (голозёрного) и с плёнками (для плёнчатых сортов).

Результаты и обсуждение

Гравиметрический метод определения β-глюканов в зерне овса включает в себя получение овсяной муки с последующим поэтапным отделением сопутствующих веществ (белок, масло, крахмал), высушиванием до постоянной массы выделившихся β-глюканов, их взвешиванием и определением процентного содержания в муке, с дальнейшим пересчётом на сухое вещество.

Метод количественного определения β-глюканов включает в себя следующие этапы:

1. Предварительно измельченное зерно овса обрабатывали 50%-ным этиловым спиртом в соотношении 1:10 (масса муки в граммах: объём спирта в мл, $m:v$; $g:ml$), для извлечения свободных сахаров, части липидов, белков и других веществ. Экстракцию проводили при температуре 60°C в течение 30 минут, что также способствует инактивации β-глюканазы (Skendi et al., 2003). Затем суспензию центрифугировали при скорости вращения 15 тыс. об/мин в течение 15 минут и температуре +20°C (такие же параметры центрифугирования применяли на всех остальных этапах работы кроме этапа нейтрализации, где для более полного отделения осадка применяли центрифугирование с охлаждением при температуре +10°C). Этиловый спирт сливали, а полученный осадок использовали для дальнейшего исследования.

2. Высвобождение β-глюканов из алейронового слоя и эндосперма муки проводили в щелочной среде двукратной последовательной обработкой осадка 5%-ным раствором гидроксида натрия, сначала в соотношении 1:14 ($m:v$), а затем – 1:6 ($m:v$) при температуре 45°C в течение

конечного продукта; результаты подвергнуты статистической обработке и сопоставлены с данными, полученными арбитражным ферментативным методом АОАС 995.16 и ICC Standard Method No. 168 для β-глюкана (Megasyne) (Polonskiy et al., 2019).

Разработанный метод был нами апробирован на голозёрных и плёнчатых сортах овса посевного (*Avena sativa* L.) (таблица 1).

30 минут. Для лучшего перемешивания и предотвращения образования комков муки, суспензию периодически перемешивали плоскими стеклянными палочками. После каждой щелочной экстракции проводили центрифугирование. На данном этапе происходит отделение клетчатки, а в супернатанте остаются белки, крахмал, β-глюканы.

3. Объединённые щелочные экстракты нейтрализовали соляной кислотой до рН 7,0, контролируя кислотность с помощью рН-метра.

4. К полученному раствору добавляли 10%-ную фосфорновольфрамовую кислоту в соотношении 1:1,5 к массе муки (1 г муки:1,5 мл кислоты, $m:v$), перемешивали и смесь центрифугировали. Фосфорновольфрамовая кислота способствует более полному осаждению крахмала и белка и образованию плотного осадка. При этом в супернатанте остаются аминокислоты, простые сахара и β-глюканы, а в осадок переходят олигомеры крахмала и белка.

5. Выделение β-глюканов из супернатанта осуществляли добавлением к нему двукратного объёма 70%-ного этилового спирта и выдерживанием смеси в течение одного часа при температуре +20°C. При этом для лучшего перемешивания супернатант вливали в спирт, а разделение осуществляли в мерных цилиндрах на 100 см³, что способствует лучшему отделению β-глюканов от примесей.

6. β-глюканы всплывали на поверхность в виде сгустка волокон, а образовавшийся на дне рыхлый осадок, содержащий азотистые вещества и частицы крахмала, не учитывали (рис. 2). Всплывшие β-глюканы помещали в предварительно высушенные и взвешенные фарфоровые чашечки и высушивали при температуре 100-102°C до постоянной массы.

7. Содержание β-глюканов на сухую навеску муки (x , %) рассчитывали по формуле:

$$x = \frac{(m_1 - m_2) \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot c}$$

где, m_1 – масса фарфоровой чашечки с высушенными β-глюканами, г;

m_2 – масса фарфоровой чашечки, г;

m – масса муки, г;

c – содержание сухих веществ в навеске муки, %.

Содержание сухого вещества определено методом, основанном на взвешивании муки до и после её высушивания до постоянной массы при температуре 100-102°C (Ermakov, Arasimovich, 1987).

Выделенные β -глюканы проверяли на наличие сопутствующих веществ. Содержание азотистых веществ, определяемых по методу Кьельдаля, было незначи-

тельным (таблица 2). Качественная реакция на крахмал с реактивом Люголя не выявила характерной синей окраски, что указывало на отсутствие крахмалистых полисахаридов.

Результаты апробирования метода представлены в таблице 2.

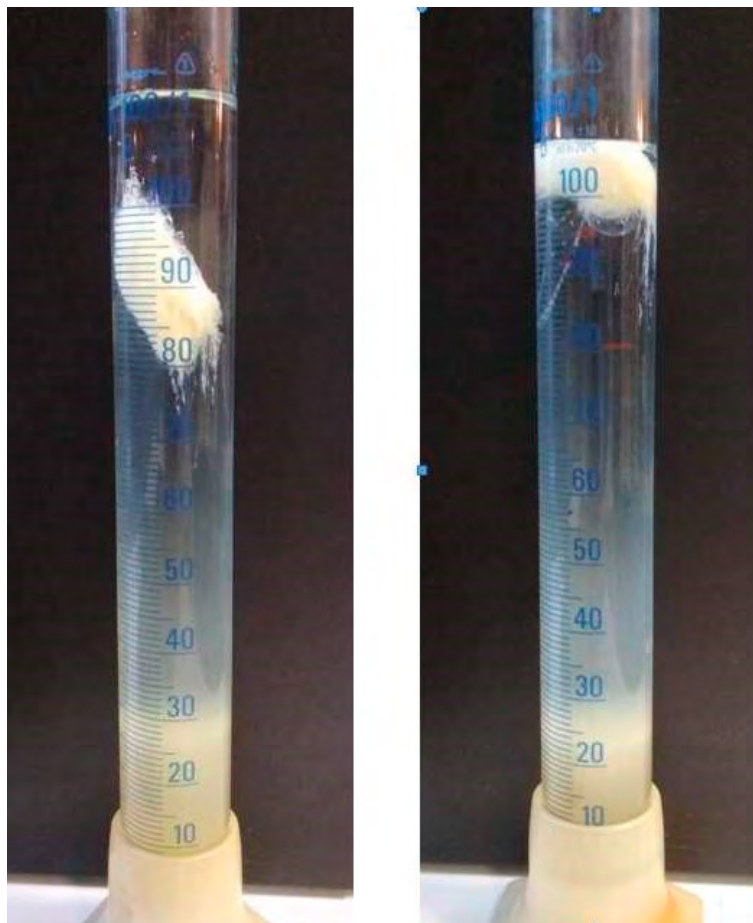


Рис. 2. Всплывшие волокна β -глюканов в растворе этанола

Fig. 2. β -glucan fibers floating in ethanol solution

Как видно из таблицы 2, содержание β -глюканов, в исследованных голозёрных и плёнчатых сортах овса сопоставимо со средними значениями за 3 года, установленными для данных сортов стандартным ферментативным методом (Megasynt) и находилось в диапазоне от $3,46 \pm 0,23$ до $4,65 \pm 0,17\%$ для голозёрных сортов, и от $3,12 \pm 0,18$ до $4,28 \pm 0,34\%$ для плёнчатых сортов овса в пересчёте на сухой вес. Содержание примесей в выделенных β -глюканах не превышало допустимый уровень: азотистые вещества находились в диапазоне от 0,07 до 0,12% к сухому весу β -глюканов; следы крахмала не обнаружены.

Разработанный гравиметрический метод определе-

ния β -глюканов в зерне овса позволяет непосредственно выделять β -глюканы из образцов, очищать их от различных примесей и рассчитывать процентное содержание к массе навески.

Информация о содержании β -глюканов в зерне разных образцов овса чрезвычайно скудна (Loskutov, Polonskiy, 2017). Предлагаемый нами метод определения β -глюканов можно с успехом применять для анализа голозёрных и плёнчатых сортов овса. К достоинствам метода относятся доступность используемых в нем реактивов и оборудования, а также незначительные временные затраты на подготовку и проведение анализа. Особо следует отметить возможность количественного определения получа-

Таблица 2. Содержание β -глиуканов в голозёрных и плёнчатых сортах овса

Table 2. β -glucans content in naked and covered oat cultivars

| Форма овса/ Oat form | Название сорта/ Cultivar name | Сухое вещество, %/ Dry matter, % | β -глиуканы, % β -glucans, % | | Азотистые вещества (от суммы β -глиуканов), %/ Nitrogenous substances (of the total β -glucans), % | Средние данные за 3 года/ Average data for 3 years* | |
|--------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|---|---|---|--|------|
| | | | на воздушно-сухую навеску/ of the air dried sample | на термически высушенную навеску/ of the heat-dried sample | | \bar{x} | Cv |
| Голозёрный Naked oat | Пушкинский Pushkinskii | 92,02±0,28 | 3,95±0,06 | 4,29±0,06 | 0,12 | - | - |
| | Вятский Vyatskii | 91,21±0,01 | 3,16±0,21 | 3,46±0,23 | 0,09 | 3,73 | 8,6 |
| | Голец Goletz | 90,89±0,11 | 3,83±0,02 | 4,21±0,02 | 0,07 | 4,06 | 13,7 |
| | Тайдон Tajdon | 91,18±0,14 | 4,24±0,16 | 4,65±0,17 | 0,11 | 4,77 | 9,9 |
| Плёнчатый Covered oat | Факир Fakir | 92,40±0,11 | 3,49±0,11 | 3,78±0,12 | 0,08 | - | - |
| | Лев Lev | 92,47±0,07 | 3,96±0,31 | 4,28±0,34 | 0,10 | - | - |
| | Сапсан Sapsan | 92,53±0,04 | 3,42±0,06 | 3,70±0,06 | 0,08 | 3,83 | 1,5 |
| | Тубинский Tubinskii | 91,31±0,08 | 2,85±0,17 | 3,12±0,18 | 0,07 | 2,90 | 10,3 |

* стандартный метод АОАС 995.16 и ICC Standard Method No. 168 для β -глиукана (Megasyne) (Polonskiy et al., 2019).

емого продукта благодаря практически полному отсутствию в нем сопутствующих примесей. Учитывая тот факт, что в настоящее время в изучении коллекционных образцов злаков (Polonskiy et al., 2019) с целью выявления нового интересного селекционного материала большое значение придается методам, позволяющим определять в зерне содержание важных биохимических компонентов, повышающих его пищевую ценность, предлагаемый метод можно использовать при массовом анализе.

Заклучение

При изучении генофонда зерновых, в частности овса и ячменя, как культур, характеризующихся высоким содержанием β -глиуканов, предложенный нами метод может быть полезен для построения калибровочных кривых при использовании метода инфракрасной спектроскопии. Возможно, в дальнейшем это позволит найти новое более узкоспециализированное и многозадачное

применение данных культур в пищевой промышленности и будет способствовать созданию коммерческих сортов овса кормового и пищевого направлений (Zhu et al., 2016).

References/Литература

- Bechtel D.B., Abecassis J., Shewry P.R., Evers A.D. Development, structure, and mechanical properties of the wheat grain. In: Shewry P. R., Khan K. (eds.) *Wheat: chemistry and technology*. 4th ed. American Association of Cereal Chemists (AACC), St. Paul. MN; 2009. p.51-95. DOI: 10.1016/B978-1-891127-55-7.50010-0
- Blakeney A.B., Flinn P.C. Determination of non-starch polysaccharides in cereal grains with near-infrared reflectance spectroscopy. *Molecular Nutrition and Food Research*. 2005;49(6):546-550. DOI: 10.1002/mnfr.200500038
- Brownlee I.A. The physiological roles of dietary fibre. *Food Hydrocolloids*. 2011;25(2):238-250. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2009.11.013
- Cherdthong A., Seankamsorn A., Suriyapha C., Chanjula P., Wanapat M. Effect of β -glucan supplementation on feed intake, digestibility of nutrients and ruminal fermentation in Thai native beef cattle. *Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2018;102(6):1509-1514. DOI: 10.1111/jpn.12989
- Dikeman C.L., Fahey G.C. Viscosity as related to dietary fibre:

- a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2006;46(8):649-663.
- Ermakov A.I., Arasimovich V.V., Yarosh N.P., Peruanskiy Yu.V., Lukovnikova G.A., Ikonnikova M.I. Methods of biochemical research of plants (Metody biohimicheskikh issledovaniy rasteniy). A.I. Ermakov (ed.). 3rd ed. Leningrad; 1987. [in Russian] (Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П., Перуанский Ю.В., Луковникова Г.А., Иконникова М.И. Методы биохимических исследований растений / под ред. А.И. Ермакова. 3-е изд. Ленинград; 1987).
- Faure A.M., Koppeno W.H., Nyström L. Iron (II) binding by cereal β -glucan. *Carbohydrate Polymers*. 2015;115:739-743. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.07.038
- Gajdošová A., Petrušáková Z., Havrlentová M., Červená V., Hozová B., Šturdík E., Kogan G. The content of water-soluble and water-insoluble β -D-glucans in selected oats and barley varieties. *Carbohydrate Polymers*. 2007;70:46-52.
- Gematdinova V.M., Kanarskii A.V., Kanarskaya Z.A., Smetanskaya I.I. Influence of alkaline and environmental processing of oil and grain outs on β -glucane output (Vliyanie shelochnoy i fermentativnoy obrabotki zerna ovsa i ovseyanikh otrubei na vihod beta-glucana). *Proceedings of VSUET = Vestnik VGUIT*. 2017;79(3):164-168. [in Russian] (Гемаддинова В.М., Канарский А.В., Канарская З.А., Сметанская И.И. Влияние щелочной и ферментативной обработки зерна овса и овсяных отрубей на выход бета-глюкана. *Вестник ВГУИТ*. 2017;79(3):164-168). DOI: 10.20914/2310-1202-2017-3-164-168
- Lee C.J., Horsley R.D., Manthey F.A., Schwarz P.B. Comparison of β -glucan content of barley and oat. *Cereal Chemistry*. 1997;74(5):571-575. DOI: 10.1094/CCHEM.1997.74.5.571
- Loskutov I.G., Polonskiy V.I. Content of β -glucans in oat grain as a perspective direction of breeding for health products and fodder. *Agricultural Biology*. 2017;52(4):646-657. DOI: 10.15389/agrobiology.2017.4.646eng
- McCleary B.V., Codd R. Measurement of (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)- β -D-glucan in barley and oats: streamlined enzymic procedure. *Journal of Science Food and Agriculture*. 1991;55:303-312.
- Polonskiy V.I., Surin N.A., Gerasimov S.A., Lipshin A.G., Sumina A.V., Zute S. The study of oat varieties (*Avena sativa* L.) of different geographical origin for grain quality and productivity (Izuchenie sortov ovsa (*Avena sativa* L.) razlichnogo geograficheskogo proiskhozhdeniya po kachestvu zerna i produktivnosti). *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(6):683-690. [in Russian] (Полонский В.И., Сурин Н.А., Герасимов С.А., Липшин А.Г., Сумина А.В., Зюте С. Изучение сортов овса (*Avena sativa* L.) различного географического происхождения по качеству зерна и продуктивности. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2019;23(6):683-690. DOI: 10.18699/VJ19.541
- Popov V.S., Krasilnikov V.N., Barsukova N.V. Beta-glucans of oats in functional and therapeutic nutrition (Beta-glyukany ovsa v funktsionalnom i lechebnoy pitanii). *Problems of economics and management in trade and industry = Problemy ekonomiki i upravleniya v torgovle i promyshlennosti*. 2014;2(6):78-83. [in Russian] (Попов В.С., Красильников В.Н., Барсукова Н.В. Бета-глюканы овса в функциональном и лечебном питании. *Проблемы экономики и управления в торговле и промышленности*. 2014;2(6):78-83).
- Regand A., Chowdhury Z., Tosh S.M., Wolever T.M.S., Wood P. The molecular weight, solubility and viscosity of oat β -glucan affect human glycemic response by modifying starch digestibility. *Food Chemistry*. 2011;129(2):297-304. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.04.053
- Salomatov A.S. Acidic extraction of β -glucan from barley (Polucheniye beta-glucana iz yachmenya metodom kislotnoy ekstraktsii). *Bulletin of Altai State Agrarian University = Vestnik Altajskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2015;6(128):130-134. [in Russian] (Саломатов А.С. Получение β -глюкана из ячменя методом кислотной экстракции. *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. 2015;6(128):130-134).
- Schmidt J., Gergely S., Schönlechner R., Grausgruber H., Tömösközi S., Salgó A., Berghofer E. Comparison of Different Types of NIR Instruments in Ability to Measure β -glucan Content in Naked Barley. *Cereal Chemistry*. 2009;86(4):398-404. DOI: 10.1094/CCHEM-86-4-0398
- Shewry P.R., Piiroinen V., Lampi A.-M., Nyström L., Li L., Rakszegi M., Fraš A., Boros D., Gebruers K., Courtin C.M., Delcour J.A., Andersson A.A.M., Dimberg L., Bedó Z., Ward J.L. Phytochemical and Fiber Components in Oat Varieties in the HEALTH-GRAIN Diversity Screen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009;56(21):9777-9784. DOI: 10.1021/jf801880d
- Skendi A., Biliaderis C.G., Lazaridou A., Izydorczyk M.S. Structure and rheological properties of water soluble β -glucans from oat cultivars of *Avena sativa* and *Avena byzantina*. *Journal of Cereal Science*. 2003;38(1):15-31. DOI: 10.1016/S0733-5210(02)00137-6
- Svihus B., Gullord M. Effect of chemical content and physical characteristics on nutritional value of wheat, barley and oats for poultry. *Animal Feed Science and Technology*. 2002;102(1-4):71-92. DOI: 10.1016/S0377-8401(02)00254-7
- Tikanoja S., Suoniemi-Kähärä A., Otama L. Method for determining the concentration of beta-d-glucan. Finland; patent number: EP2810051A1; 2014.
- Wood P.J. Oat and rye β -glucan: properties and function. *Cereal Chemistry*. 2010;87(4):315-330. DOI: 10.1094/CCHEM-87-4-0315
- Zhu F., Du B., Xu B. A critical review on production and industrial applications of β -glucans. *Food Hydrocolloids*. 2016;52:275-288. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2015.07.003

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СОРТИМЕНТА РЕМОНТАНТНОЙ МАЛИНЫ ДЛЯ СЕВЕРО-КАВКАЗСКОГО РЕГИОНА РФ НА ОСНОВЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА КОЛЛЕКЦИЙ ВИР

Подорожный В.Н., Пиянина Н.А.

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Крымская опытно-селекционная станция – филиал ВИР, 353384 Россия, г.Крымск, ул. Вавилова, 12; ✉ kross67@mail.ru

Для малины (*Rubus idaeus* Focke), одной из наиболее ценных и популярных ягодных культур в России, актуально изучение взаимодействия генотип-среда. Сложный геномный состав современных сортов культуры, модифицирующее влияние климатических условий выращивания на проявление изменчивости признаков, влияющих на товарную урожайность плодов, обуславливают необходимость проведения оценки имеющихся в коллекции сортов с целью выделения наиболее оптимальных для конкретных агробиологических условий региона, в котором планируется выращивание. В ходе трехлетнего (2017-2019 гг.) изучения десяти коллекционных образцов ремонтантной и полуремонтантной малины отечественной и зарубежной селекции, собранных на Крымской ОСС – филиале ВИР, наблюдали биологические особенности прохождения фенологических фаз сезонного роста и развития малины по следующим признакам: число ягод, среднюю, минимальную и максимальную массу ягоды, общий и товарный урожай. Цель проводимой работы – подбор высокотехнологичных сортов ремонтантной малины для товарных насаждений Северо-Кавказского региона России путем выделения оптимальных, по комплексу хозяйственно-ценных признаков, из имеющихся образцов в коллекции генетических ресурсов растений ВИР. Количественная оценка влияния генотипа сорта, условий года выращивания и их совместного действия на изученные признаки в исследованиях выполнена с помощью двухфакторного дисперсионного анализа. Показано, что на товарную продуктивность куста наибольшее влияние имеют сортовые особенности (доля влияния фактора «сорт» – 68%), и в меньшей мере – погодные условия (доля влияния фактора «год» – 7,5%). Обобщение и комплексный анализ полученных в ходе проведенной работы данных показал, что по комплексу хозяйственно-ценных признаков для широкого производственного испытания из изученных коллекционных образцов можно рекомендовать сорта: 'Брянское Диво', 'Геракл', 'Ника' и 'Антей'. Использование ускоренного клонального микроразмножения малины ремонтантного типа плодоношения позволяет получить достаточное количество саженцев для закладки участков производственного сортоиспытания в течение одного-двух лет после введения в культуру, что как следствие положительно влияет на сроки внедрения в производство новых сортов.

Ключевые слова: малина, сорт, коллекция, продуктивность

Для цитирования: Подорожный В.Н., Пиянина Н.А. Совершенствование сортимента ремонтантной малины для Северо-Кавказского региона РФ на основе использования биологического потенциала коллекций ВИР. *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(1):13-24. DOI: 10.30901/2658-6266-2021-1-o2

Прозрачность финансовой деятельности. Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. **Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.** **Дополнительная информация.** Полные данные этой статьи доступны <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-1-o2> **Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы. Все авторы одобрили рукопись. Конфликт интересов отсутствует.**

Благодарности: Работа выполнена на коллекции генетических ресурсов растений ВИР в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0662-2019-0004 «Коллекции вегетативно размножаемых культур (картофель, плодовые, ягодные, декоративные, виноград) и их диких родичей ВИР – изучение и рациональное использование».

IMPROVING THE PERPETUAL RASPBERRY ASSORTMENT FOR THE NORTH CAUCASIAN REGION OF THE RUSSIAN FEDERATION BY DRAWING ON THE BIOLOGICAL POTENTIAL OF VIR COLLECTIONS

Podorozhnyi V.N., Piyanina N.A.

Krymsk Experiment Breeding Station of VIR, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources,
12 Vavilova Street, Krymsk 353384, Russia;
✉ kross67@mail.ru

For raspberries (*Rubus idaeus* Focke), one of the most valuable and popular berry crops in Russia, it is important to study the genotype-environment interaction. The complex genomic composition of modern varieties of this crop, the modifying influence of climatic growing conditions on the manifestation of variable traits that affect the marketable fruit yield, necessitate an assessment of the varieties available in the collection in order to identify the most optimal ones for specific agrobiological conditions of the region chosen for crop cultivation. During a three-year (2017-2019) study of ten accessions of perpetual and semi-perpetual raspberries of domestic and foreign breeding accumulated at the Krymsk EBS, a branch of VIR, biological features of the phenophases of raspberries seasonal growth and development were observed concerning the following characters: the number of berries; average, minimum and maximum berry weight, as well as the total and marketable yield. The purpose of this work was to select high-tech varieties of perpetual raspberries for commercial plantations in the North Caucasus region of Russia by selecting the optimal ones with a complex of economically important traits, from those available in the VIR collection of plant genetic resources. A quantitative assessment of the influence of the variety genotype, of the conditions of the year of cultivation and their combined effect on the studied characters was carried out using the two-factor analysis of variance. It was shown that varietal characters have the greatest effect on the commercial productivity of the bush (the share of the “variety” factor influence is 68%), while weather conditions influence it to a lesser extent (the share of the “year” factor influence is 7.5%). Generalization and complex analysis of the data obtained in the course of this work showed that a combination of economically important traits was exhibited by the studied varieties ‘Bryanskoe Divo’, ‘Hercules’, ‘Nika’ and ‘Antey’, which can be recommended for large-scale production trials. The use of the rapid clonal micropropagation of raspberries of perpetual fruiting type makes it possible to obtain a sufficient number of plantlets for laying out industrial variety trials for one to two years after the introduction into the culture, which, as a result, accelerates the introduction of new varieties into production.

Key words: raspberry, variety, collection, productivity

For citation: Podorozhnyi V.N., Piyanina N.A. Improving the perpetual raspberry assortment for the North Caucasian region of the Russian Federation by drawing on the biological potential of VIR collections. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(1):13-24. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-1-o2

Financial transparency. The authors have no financial interest in the presented materials or methods.

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. Additional information. Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-1-o2> **The journal’s opinion is neutral to the presented materials, the author, and his or her employer. All authors approved the manuscript.**

No conflict of interest.

ORCID:

Podorozhnyi V.N. <https://orcid.org/0000-0003-3654-116X>

Piyanina N.A. <https://orcid.org/0000-0003-3632-2207>

УДК 634.711:631.526.32:631.526.1/4(470.6)

Поступила в редакцию: 13.01.2021

Принята к публикации: 21.03.2021

Acknowledgments: The present work was carried out using the VIR collection of plant genetic resources, within the framework of the State Assignment No. 0662-2019-0004 “VIR collections of vegetatively propagated crops (potato, fruit, berry, ornamental crops, grape) and their wild relatives; their study and rational use”.

Введение

Малина (*Rubus idaeus* Focke) – одна из наиболее ценных и популярных ягодных культур в России (Kazakov, 2001, Kazakov et al., 2016). Ягоды малины не просто вкусны и ароматны, но и обладают диетическими и лечебными свойствами для организма человека. Целебным является практически все растение – листья, стебель, соцветия, корень (Ferlemi, Lamari, 2016; Parsons et al., 1999). Согласно проведенным биохимическим исследованиям (Prichko et al., 2015), в ягодах малины основных сортов, произрастающих на юге Российской Федерации, содержится в зависимости от сортовых особенностей от 6,3 до 13,0% сухих веществ, 4,95-10,3% углеводов, от 0,12 до 1,1% сахаров (фруктоза, глюкоза), а также 0,96-2,83% органических кислот.

Потребность в свежих плодах малины на юге России велика и возрастает многократно в период курортного сезона. Ремонтантные сорта этой культуры в этом отношении наиболее полно соответствуют критерию выбора сортов, для выращивания в этом регионе. Начиная созревать в июне месяце, они заканчивают плодоношение, с некоторым перерывом, до наступления заморозков. Цена на такую продукцию остается высокой в течение всего периода реализации. Выращиваемого на сегодняшний день объема товарной продукции культуры не достаточно даже для покрытия дефицита потребления в свежем виде, а для поставки в качестве сырья для консервной и перерабатывающей промышленности ее практически нет. Малина высокоурожайная (до 15 т/га), скороплодная культура (вступает в плодоношение на второй и третий год). Как следствие, высокая цена на товарную продукцию, скороплодность и урожайность привлекают внимание к культуре сельхозтоваропроизводителей, работающих с садовыми культурами. Однако больших товарных насаждений в южной зоне садоводства нет (Egorov, 2012). Основная трудность наращивания площадей под малиной, а следовательно и объемов производства, – отсутствие сортов, соответствующих агробиологическим условиям региона (Egorov, 2013). Практически все сорта малины в России созданы в научных учреждениях, работающих для центральной полосы и северных регионов. Сорта для южных регионов, отличающихся высокими температурами в период вегетации и низкой относительной влажностью, недостаточно.

Быстрому внедрению в производство новых сортов ремонтантной малины, полученных на основе сложной межвидовой гибридизации, мешает малое количество образования ими корневой поросли, а соответственно низкий выход из питомника саженцев при традиционном вегетативном размножении.

Это связано с биологическими особенностями развития высокопродуктивных ремонтантных форм малины, у которых основные ресурсы направлены на ускоренное плодоношение, наступающее на побегах текущего года (Kazakov, 2001).

Альтернативой традиционному вегетативному размножению в питомнике в данном случае становится клonale микроразмножение новых сортов малины ремонтантного типа плодоношения в лабораторных условиях.

На сегодняшний день, в целом, разработан способ такого размножения для малины (Kulkhanova et al., 2012; Skovorodnikov, 2004) и он эффективен – позволяет в относительно короткие сроки получать достаточно большое количество посадочного материала.

Цель проводимой работы – подбор высокотехнологичных сортов ремонтантной малины для товарных насаждений Северо-Кавказского региона России путем выделения оптимальных по комплексу хозяйственно-ценных признаков из имеющихся образцов в коллекции генетических ресурсов растений ВИР и их ускоренное внедрение в производство на основе использования биотехнологических методов.

Материал и методы

Исследования проводили в 2017-2019 гг. на Крымской опытно-селекционной станции (КОСС, филиале ВИР) на участке стационарного сортоизучения малины и в лаборатории биотехнологии и биохимии. Плантация заложена в 2015 году в окрестностях города Крымска, расположенного на берегу реки Адагум, в предгорьях Северо-Западной части главного Кавказского хребта, в 102 км к юго-западу от города Краснодар и 53 км к северо-востоку от города Новороссийска. Климат умеренно-континентальный. Почвы суглинистые.

Объекты исследований – девять сортов малины ремонтантного и один полуремонтантного типа плодоношения отечественной и зарубежной селекции, отобранные при первичном сортоизучении из коллекции Крымской ОСС согласно методическим рекомендациям (Yushev et al., 2016): ‘Бабье Лето’ (контроль, № каталога ВИР 35923) ‘Рубиновое Ожерелье’ (№ каталога КОСС 26167), ‘Брянское Диво’ (№ каталога КОСС 26169), ‘Пингвин’ (№ каталога КОСС 26179), ‘Polka’ (№ каталога КОСС 26053), ‘Атлант’ (№ каталога КОСС 26125), ‘Геракл’ (№ каталога ВИР 14818А), ‘Желтый Гигант’ – полуремонтантный (№ каталога ВИР 14819А), ‘Ника’ (№ каталога КОСС 26176) и ‘Антей’ (№ каталога КОСС 26175).

Схема опыта – три повторности каждого сорта по 30 растений, высаженных рандомизированно, однострочно по схеме 2,8 × 0,7 м, с подвязкой побегов на шпалеру, капельным поливом и фертигацией. Уходные работы на участке осуществлялись согласно методическим рекомендациям (Podorozhnyi, 2017).

Основные учеты и наблюдения в посадках проводили в соответствии с «Программой и методикой сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур» (Sedov, 1999).

Температура воздуха и количество выпавших осадков за годы исследований приведены согласно данным, представленных метеостанцией г. Крымска.

В полевых опытах:

- наблюдали биологические особенности роста и развития малины при прохождения фенологических фаз;
- изучали следующие признаки: число ягод, среднюю, минимальную и максимальную массу ягоды, общий и товарный урожай.

Товарное количество ягод или товарную продуктивность определяли по окончательному количеству ягод, отобранных в соответствии с ГОСТ 3525-75. Процент потерь урожая был рассчитан как разница между первоначальной урожайностью на участок и расчетной товарной урожайностью на участок. Средний вес ягоды оценивали путем деления товарной урожайности на товарное количество ягод.

Количественная оценка влияние генотипа сорта, условий года выращивания на признак товарная продуктив-

ность куста выполнена с помощью дисперсионного анализа (Dospikhov, 1979).

За основу в работе по клональному микроразмножению ремонтантных сортов малины взяты методические рекомендации (Поров, 1979).

Математическая обработка полученных данных осуществлена с помощью компьютерных программ Excel и Statistica 10.

Результаты и обсуждение

Как показали наши наблюдения, погодные условия года и генотип растения в совокупности оказывали наиболее существенное влияние на сроки прохождения фенологических фаз развития растениями малины (рис. 1-2, таблицы 1-4).

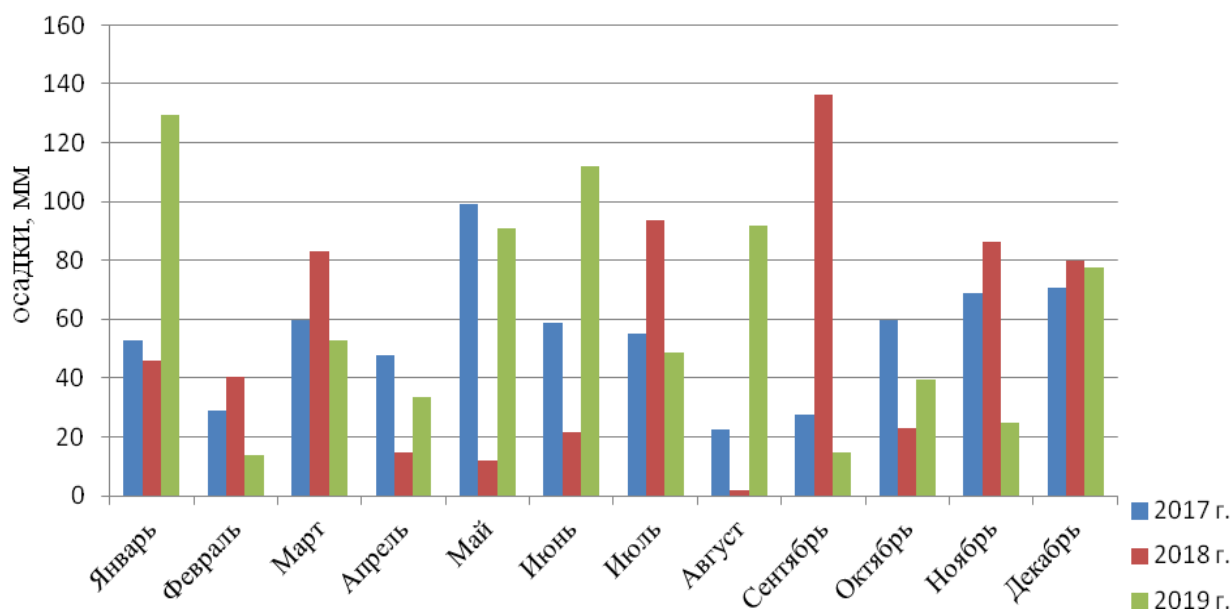


Рис. 1. Количество выпавших осадков за годы исследования, Крымская ОСС – филиал ВИР, 2017-2019 гг.

Fig. 1. The amount of precipitation during the years of research, Krymsk EBS*, 2017-2019

* Krymsk Experiment Breeding Station of VIR

**Таблица 1. Температура воздуха за годы исследования,
Крымская ОСС – филиал ВИР, 2017-2019 гг.**

**Table 1 Air temperature over the years of research,
Krymsk EBS, 2017-2019**

| Месяц/ Month | Максимальная t°C/ Maximal t°C | | | Минимальная t°C/ Minimal t°C | | | Средняя t°C/ Average t°C | | | Средняя многолетняя t°C/ Long-term average t°C |
|-----------------|----------------------------------|---------|---------|---------------------------------|---------|---------|-----------------------------|---------|---------|--|
| | 2017 г. | 2018 г. | 2019 г. | 2017 г. | 2018 г. | 2019 г. | 2017 г. | 2018 г. | 2019 г. | |
| I | 16,6 | 12,3 | 16,7 | -18,4 | -7,1 | -3,5 | 0,6 | 2,0 | 3,6 | -0,4 |
| II | 15,4 | 15,1 | 14,8 | -16,8 | -7,8 | -6,1 | 1,1 | 3,2 | 3,4 | 0,6 |
| III | 21,9 | 22,0 | 20,0 | -1,3 | -5,7 | -3,5 | 8,0 | 6,6 | 6,2 | 4,6 |
| IV | 27,4 | 29,3 | 25,9 | -2,2 | 0,3 | -1,9 | 10,6 | 13,6 | 11,1 | 11,4 |
| V | 29,1 | 31,1 | 30,6 | 2,7 | 3,8 | 4,9 | 16,0 | 19,3 | 18,2 | 16,1 |
| VI | 32,5 | 37,3 | 34,8 | 7,4 | 7,1 | 12,0 | 21,0 | 23,1 | 24,0 | 20,2 |
| VII | 35,4 | 37,0 | 32,1 | 10,9 | 14,9 | 11,6 | 23,8 | 25,4 | 22,3 | 22,7 |
| VIII | 37,7 | 35,3 | 35,2 | 12,4 | 11,1 | 9,1 | 24,4 | 24,6 | 22,7 | 21,8 |
| IX | 36,0 | 31,9 | 31,8 | 0,8 | 3,1 | 5,2 | 20,3 | 19,2 | 17,6 | 16,9 |
| X | 30,3 | 27,0 | 31,2 | -1,4 | 1,1 | 1,7 | 12,3 | 13,6 | 13,4 | 11,0 |
| XI | 21,6 | 18,2 | 26,4 | -6,3 | -5,7 | -8,7 | 6,6 | 3,8 | 6,6 | 5,6 |
| XII | 18,9 | 12,2 | 19,8 | -1,4 | -2,7 | -5,4 | 7,3 | 3,2 | 5,4 | 2,2 |

**Таблица 2. Сроки прохождения фенологических фаз развития растениями малины
сортов ремонтантного типа плодоношения, Крымская ОСС – филиал ВИР, 2017 г.**

**Table 2. The timing of phenophases of development of raspberry
varieties of perpetual fruiting type, Krymsk EBS, 2017**

| Сорт, гибрид/ Cultivar, hybrid | Начало вегетации/ Start of vegetation | Начало цветения/ Start of flowering | | Конец цветения/ End of flowering | | Начало созревания/ Start of fruit ripening | |
|-----------------------------------|--|--|----------|-------------------------------------|----------|---|----------|
| | | I волна | II волна | I волна | II волна | I волна | II волна |
| ‘Бабье Лето’ (к) | 08.03 | 10.05 | 10.07 | 03.06 | 23.10 | 06.06 | 05.08 |
| ‘Рубиновое Ожерелье’ | 10.03 | 05.05 | 05.07 | 29.05 | 28.10 | 09.06 | 30.07 |
| ‘Брянское Диво’ | 15.03 | 07.05 | 07.07 | 30.05 | 18.10 | 08.06 | 12.08 |
| ‘Пингвин’ | 10.03 | 15.05 | 09.07 | 06.06 | 18.10 | 10.06 | 02.08 |
| ‘Polka’ | 08.03 | 18.05 | 13.07 | 10.06 | 22.10 | 11.06 | 10.08 |
| ‘Атлант’ | 06.03 | 09.05 | 07.07 | 30.05 | 25.10 | 05.06 | 29.07 |
| ‘Геракл’ | 10.03 | 15.05 | 08.07 | 08.06 | 28.10 | 10.06 | 02.08 |
| ‘Желтый Гигант’ | 13.03 | 18.05 | 14.07 | 10.06 | 15.10 | 15.06 | 10.08 |
| ‘Ника’ | 06.03 | 15.05 | 15.07 | 13.06 | 26.10 | 18.06 | 17.08 |
| ‘Антей’ | 12.03 | 10.05 | 10.07 | 10.06 | 16.10 | 16.06 | 09.08 |

Таблица 3. Сроки прохождения фенологических фаз развития растениями малины сортов ремонтантного типа плодоношения, Крымская ОСС – филиал ВИР, 2018 г.

Table 3. The timing of phenophases of development of raspberry varieties of perpetual fruiting type, Krymsk EBS, 2018

| Сорт, гибрид/ Cultivar, hybrid | Начало вегетации/ Start of vegetation | Начало цветения/ Start of flowering | | Конец цветения/ End of flowering | | Начало созревания/ Start of fruit ripening | |
|-----------------------------------|--|--|----------|-------------------------------------|----------|---|----------|
| | | I волна | II волна | I волна | II волна | I волна | II волна |
| ‘Бабье Лето’ (к) | 12.03 | 09.05 | 08.07 | 30.05 | 08.10 | 02.06 | 01.08 |
| ‘Рубиновое Ожерелье’ | 15.03 | 05.05 | 04.07 | 25.05 | 12.10 | 04.06 | 28.07 |
| ‘Брянское Диво’ | 20.03 | 07.05 | 10.07 | 27.05 | 15.10 | 04.06 | 05.08 |
| ‘Пингвин’ | 14.03 | 11.05 | 05.07 | 29.05 | 08.10 | 06.06 | 28.07 |
| ‘Polka’ | 12.03 | 13.05 | 10.07 | 03.06 | 08.10 | 05.06 | 05.08 |
| ‘Атлант’ | 10.03 | 03.05 | 05.07 | 28.05 | 12.10 | 30.05 | 26.07 |
| ‘Геракл’ | 14.03 | 10.05 | 07.07 | 30.05 | 15.10 | 05.06 | 28.07 |
| ‘Желтый Гигант’ | 15.03 | 12.05 | 10.07 | 01.06 | 01.10 | 12.06 | 04.08 |
| ‘Ника’ | 10.03 | 13.05 | 20.07 | 05.06 | 22.10 | 13.06 | 10.08 |
| ‘Антей’ | 15.03 | 08.05 | 18.07 | 02.06 | 02.10 | 10.06 | 07.08 |

Таблица 4. Сроки прохождения фенологических фаз развития растениями малины сортов ремонтантного типа плодоношения, Крымская ОСС – филиал ВИР, 2019 г.

Table 4. The timing of phenophases of development of raspberry varieties of perpetual fruiting type, Krymsk EBS, 2019

| Сорт, гибрид/ Cultivar, hybrid | Начало вегетации / Start of vegetation | Начало цветения/ Start of flowering | | Конец цветения/ End of flowering | | Начало созревания/ Start of fruit ripening | |
|-----------------------------------|---|--|----------|-------------------------------------|----------|---|----------|
| | | I волна | II волна | I волна | II волна | I волна | II волна |
| ‘Бабье Лето’ (к) | 20.03 | 07.05 | 13.07 | 28.05 | 23.09 | 27.05 | 05.08 |
| ‘Рубиновое Ожерелье’ | 23.03 | 04.05 | 10.07 | 24.05 | 05.10 | 30.05 | 03.08 |
| ‘Брянское Диво’ | 25.03 | 04.05 | 15.07 | 24.05 | 06.10 | 28.05 | 07.08 |
| ‘Пингвин’ | 21.03 | 08.05 | 13.07 | 26.05 | 23.09 | 01.06 | 05.08 |
| ‘Polka’ | 20.03 | 10.05 | 15.07 | 30.05 | 23.09 | 02.06 | 07.08 |
| ‘Атлант’ | 18.03 | 03.05 | 12.07 | 26.05 | 30.09 | 28.05 | 03.08 |
| ‘Геракл’ | 23.03 | 07.05 | 13.07 | 28.05 | 05.10 | 03.06 | 03.08 |
| ‘Желтый Гигант’ | 25.03 | 10.05 | 18.07 | 30.05 | 18.09 | 08.06 | 16.08 |
| ‘Ника’ | 18.03 | 12.05 | 27.07 | 03.06 | 08.10 | 10.06 | 15.08 |
| ‘Антей’ | 23.03 | 05.05 | 25.07 | 01.06 | 25.09 | 06.06 | 12.08 |

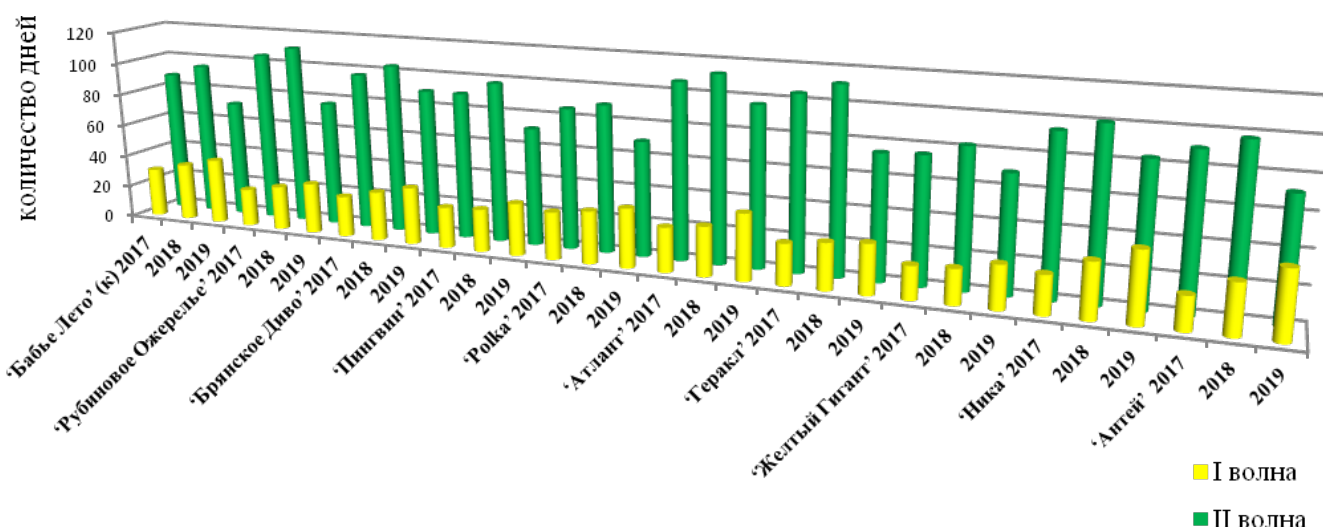


Рис. 2. Продолжительность съема плодов малины за годы исследования, Крымская ОСС – филиал ВИР, 2017-2019 гг.

Fig 2. Duration of raspberries picking over the years of research, Krymsk EBS, 2017-2019

В целом, в более благоприятном для роста и развития растений малины по погодным условиям 2017 году отмечено раннее начало вегетации (6-15 марта), изучаемых ремонтантных сортов малины (см. рис. 1, табл. 1-2).

В 2018 году начало вегетации в зависимости от генотипа сорта отмечено 10-20 марта (см. табл. 3), а в 2019 году на неделю позже: 18-25 марта (см. табл. 4).

Наряду с тем, что начало всех фаз развития у растений в 2017 году отмечены раньше, чем в 2018-2019 годах, продолжительность некоторых из них была значительно дольше.

Продуктивность растений ремонтантной малины во многом зависит от начала и длительности прохождения фазы цветения.

Начало первого цветения изученных сортов малины приходилось на первую и вторую декаду мая и заканчивалось примерно через 20-30 дней. Продолжительность цветения, как первого, так и последующего, зависела от погодных условий и сортовых особенностей. Цветки у малины собраны в соцветие-кисть. Они распускаются неодновременно: сначала верхние, потом средние и нижние, поэтому ягоды созревают не сразу, а постепенно. Первое созревание плодов наступало после цветения через 20-26 дней.

Сорта 'Антей' и 'Желтый Гигант' во вторую волну независимо от условий года имели самый короткий, в среднем за годы наблюдения, общий период цветения: 62-98 дня соответственно. Самым продолжительным цветением во вторую волну отличались сорта 'Рубиновое Ожерелье' и 'Геркул' (до 115-112 дней соответственно),

а в первую волну существенных различий между сортами не выявлено (см. табл. 2-4).

Продолжительность созревания плодов за годы изучения во вторую волну самой короткой была у сорта 'Желтый Гигант' и составила 70-83 дней, а самой продолжительной – у сорта 'Атлант': 97-107 дней. В первую волну съем плодов проходил 20-42 дня в зависимости от сорта. Такое изменение продолжительности сбора урожая по сортам позволяет предположить, что генотипы по-разному взаимодействуют с окружающей средой, что согласуется с исследованиями (Hoover et al., 1989; Sønsteby, Heide, 2009), показавшими, что взаимодействие между такими факторами, как температура, фотопериод и генотип влияет на продолжительность созревания плодов (см. рис. 2).

В благоприятные по погодным условиям годы растения способны гораздо эффективнее реализовывать потенциальную продуктивность.

Основным показателем, характеризующим сорт, является его продуктивность. Прежде всего, для ремонтантной малины она определяется биологическими особенностями сорта, и, в то же время, зависит от условий произрастания, агротехники применяемой на участке, и сроков наступления осенних заморозков.

Анализируя товарный урожай растений малины, полученный за годы изучения, нами отмечено, что наиболее продуктивным, вне зависимости от погодных условий, был сорт 'Ника', давший в среднем 2,0 кг ягод с куста, что на 43% выше контроля (таблица 5).

Таблица 5. Оценка массы ягоды и товарной продуктивности малины ремонтантного типа плодоношения, Крымская ОСС – филиал ВИР, 2017-2019 гг.

Table 5. Assessment of berry mass and commercial productivity of raspberry of perpetual fruiting type, Krymsk EBS, 2017-2019

| Сорт, гибрид/ Cultivar, hybrid | Масса ягод, г, Год Mass of berry, g, Year | | | | | | | | | Товарная продуктивность куста*, кг, Год Marketable yield per bush, kg, Year | | | |
|-----------------------------------|--|-----|------|------|-----|------|------|-----|------|--|------|------|------|
| | 2017 | | | 2018 | | | 2019 | | | 2017 | 2018 | 2019 | X |
| | max | min | X | max | min | X | max | min | X | | | | |
| ‘Бабье Лето’ (к) | 2,4 | 1,5 | 2,1 | 3,4 | 2,1 | 2,8 | 3,2 | 2,0 | 2,6 | 1,4 | 1,5 | 1,3 | 1,4 |
| ‘Рубиновое Ожерелье’ | 4,6 | 2,9 | 3,8 | 5,6 | 2,8 | 4,2 | 4,4 | 3,6 | 4,0 | 1,8 | 1,7 | 1,6 | 1,7 |
| ‘Брянское Диво’ | 4,8 | 3,3 | 4,1 | 5,5 | 3,1 | 4,3 | 4,9 | 3,4 | 4,2 | 1,9 | 2,0 | 1,8 | 1,9 |
| ‘Пингвин’ | 3,9 | 2,6 | 3,3 | 4,7 | 3,4 | 4,1 | 3,6 | 2,4 | 3,0 | 1,5 | 1,6 | 1,5 | 1,5 |
| ‘Polka’ | 3,3 | 1,6 | 2,5 | 3,2 | 2,4 | 2,8 | 3,4 | 2,0 | 2,7 | 1,3 | 1,5 | 1,2 | 1,3 |
| ‘Атлант’ | 3,9 | 2,1 | 3,0 | 3,5 | 2,7 | 3,1 | 3,5 | 2,4 | 3,0 | 1,6 | 1,8 | 1,5 | 1,6 |
| ‘Геракл’ | 4,2 | 2,9 | 3,6 | 4,9 | 3,1 | 4,0 | 4,5 | 2,8 | 3,7 | 1,7 | 1,9 | 1,7 | 1,8 |
| ‘Желтый Гигант’ | 5,3 | 3,2 | 4,3 | 4,8 | 3,5 | 4,2 | 4,5 | 3,4 | 4,0 | 1,3 | 1,1 | 1,0 | 1,1 |
| ‘Ника’ | 4,3 | 3,0 | 3,6 | 5,2 | 2,9 | 4,1 | 5,1 | 3,2 | 4,2 | 1,9 | 2,1 | 2,1 | 2,0 |
| ‘Антей’ | 4,8 | 2,2 | 3,5 | 5,0 | 2,3 | 3,7 | 4,2 | 2,7 | 3,5 | 1,9 | 2,0 | 1,8 | 1,9 |
| НСР ₀₅ | - | - | 0,56 | - | - | 0,41 | - | - | 0,38 | 0,19 | 0,22 | 0,17 | 0,21 |

* Примечание: при двухфакторном анализе доля влияния фактора «сорт» на товарную продуктивность куста – 68,4%, фактора «год» – 7,5%

Высокопродуктивными были сорта ‘Геракл’ (1,8 кг), ‘Брянское Диво’ (1,9 кг), ‘Антей’ (1,9 кг). Низкопродуктивными в опыте были ‘Polka’ и ‘Желтый Гигант’, 1,3-1,1 кг с куста, что на 7-21% ниже, чем у контрольного сорта. Существенных различий по урожаю между сортами ‘Пингвин’, ‘Атлант’ и контрольным сортом не выявлено.

Основным показателем товарного качества ягод малины является их масса. В результате анализа полученных данных отмечено, что на размер ягод наиболее существенное влияние оказывают сортовые особенности, и в меньшей – погодные условия в период вегетации (см. рис. 1, табл. 1, 5).

Как показали результаты наших наблюдений, самые крупные ягоды имели сорта ‘Брянское Диво’ (4,2 г), ‘Рубиновое Ожерелье’ (4,0 г), ‘Желтый Гигант’ (4,2 г) и ‘Ника’ (4,0 г). Мелкоплодными были сорта ‘Бабье Лето’ (2,5 г) и ‘Polka’ (2,4 г). Сорта ‘Пингвин’, ‘Атлант’ и ‘Геракл’ по массе плода имели промежуточные значения.

В годы, характеризующиеся неблагоприятными для роста и развития растений погодными условиями в период вегетации, нами отмечено увеличение в общем урожае количества деформированных и недоразвитых ягод.

Проанализировав взаимодействие изученных генотипов с окружающей средой в отношении хозяйственно-ценных признаков, можно сделать вывод о значительном влиянии взаимодействия генотипа и окружающей среды на товарный урожай, массу ягоды и количество товарных плодов на куст, что согласуется с данными других исследователей (Hernandez-Bautista et al., 2018).

Из изученных генотипов малины наибольший интерес для дальнейшего производственного испытания с целью последующего вовлечения лучших из них в товарное производство Северо-Кавказского региона РФ представили следующие сорта:

‘Брянское Диво’. Сорт получен на Кокинском опорном пункте Всероссийского селекционно-технологического института садоводства и питомниководства (ВСТИСП) в 2001 г. от свободного опыления межвидовой формы 47-18-4 (рис. 3).

Сорт формирует куст из 4-6 сильноветвящихся побегов высотой 1,6-1,75 м. Ягоды очень крупные, привлекательной удлиненно-конической формы, с однородными костянками, красного цвета, плотные. Вкус ягод кисло-сладкий. Ягоды пригодны для потребления как в свежем виде, так и для всех видов переработки.



Рис. 3. Ягоды малины сорта 'Брянское Диво'

Fig. 3. Raspberries of the 'Bryanskoye Divo' variety



Рис. 4. Ягоды малины сорта 'Геракл'

Fig. 4. Raspberries of the 'Gerakl' variety

'Брянское Диво'. Сорт получен на Кокинском опорном пункте Всероссийского селекционно-технологического института садоводства и питомниководства (ВСТИСП) в 2001 г. от свободного опыления межвидовой формы 47-18-4 (рис. 3).

Сорт формирует куст из 4-6 сильноветвящихся побегов высотой 1,6-1,75 м. Ягоды очень крупные, привлекательной удлинненно-конической формы, с однородными костянками, красного цвета, плотные. Вкус ягод кисло-сладкий. Ягоды пригодны для потребления как в свежем виде, так и для всех видов переработки.

'Геракл'. Сорт выведен на Кокинском опорном пункте ВСТИСП от скрещивания 'Autumn Bliss' × сеянец 14-205-4 (рис. 4).

Засухоустойчив. Куст раскидистый, высотой 1,5-2 метра. Плоды рубинового цвета имеют выраженную форму конуса. Плоды приятного кисло-сладкого вкуса с характерным ароматом, транспортабельные, универсального назначения.

‘Ника’. Получен на Крымской ОСС филиале ВИР от скрещивания сорта ‘Геракл’ и смеси пыльцы ремонтантных сортов (рис. 5).

Засухоустойчив. Куст из 8-10 побегов высотой 1,2-1,3 м, побеги пряморослые, толстые и средние, шиповатость слабая. Ягоды крупные, конической формы, с однородными костянками, темно-красного цвета, транспортабельные. Вкус ягод сладкий, пригодны для потребления как в свежем виде, так и для всех видов переработки.

‘Антей’. Сорт выведен от скрещивания ‘Геракл’ × смесь пыльцы ремонтантных сортов на Крымской ОСС филиале ВИР (рис. 6).

Засухоустойчив. Формирует кусты из шести побегов высотой 1,2-1,5 м. Ягоды крупные конической формы, с однородными костянками, красного цвета, транспортабельные, универсального назначения.



Рис. 5. Ягоды малины сорта ‘Ника’
Fig. 5. Raspberries of the ‘Nika’ variety



Рис. 6. Ягоды малины сорта ‘Антей’
Fig. 6. Raspberries of the ‘Antey’ variety



Рис. 7. Посадочный материал ремонтантной малины сорта ‘Антей’
а) на этапе субкультивирования, б) адаптированный *in vivo*

Fig. 7. Planting material of ‘Antey’ perpetual raspberry variety
a) at the stage of subculturing, b) adapted *in vivo*

Известно, что ремонтантные сорта малины отличаются низкой побегообразующей способностью (Kazakov et al., 2016). В наших опытах вышеуказанные сорта малины имели очень низкий коэффициент размножения в питомнике (не более 1:3). Для обеспечения в наиболее короткие сроки закладки участков производственно-го испытания выделившимися саженцами сортов малины, после второго года изучения, эти сорта были переданы для ускоренного микроразмножения *in vitro* в лабораторию биотехнологии и биохимии Крымской ОСС филиала ВИР.

Исследованиями по совершенствованию методики клонального микроразмножения малины, проведенными нами ранее, оптимизированы все этапы этого процесса от ввода в культуру инициальных эксплантов (Podorozhny, 2016) до адаптации микрорастений *in vivo* (Podorozhnyi, 2011). В результате проведенной работы, в 2020 году было получено необходимое количество экземпляров каждого выделенного сорта для производственного испытания (рис. 7).

Заключение

В генофонде ремонтантной малины, сосредоточенном на Крымской ОСС – филиале ВИР, на основе анализа полученных данных по комплексу хозяйственно-ценных признаков для широкого, производственного испытания в Северо-Кавказской зоне садоводства, выделены четыре сорта: ‘Брянское Диво’, ‘Геракл’, ‘Ника’ и ‘Антей’. Использование ускоренного клонального микроразмножения малины ремонтантного типа плодоношения позволило получить достаточное количество саженцев для закладки участков производственного сортоиспытания в течение одного-двух лет после введения в культуру, что, как следствие, положительно влияет на сроки внедрения в производство новых сортов.

References / Литература

- Dospikhov B.A. Field experiment technique (with the basics of statistical processing of research results): a tutorial. Moscow: Kolos; 1979. [in Russian] (Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований): учебное пособие. Москва: Колос; 1979).
- Egorov E.A. Updating the priorities in the selection of fruit, berry, nut crops and grapes for the entities of the North Caucasus (Aktualizatsiya prioritetov v selektsii plodovykh, yagodnykh, orekhoplodnykh kultur i vinograda dlya subyektov Severnogo Kavkaza). In: Egorov E.A., Eremin G.V., Ulyanovskaya E.V. et al. *Modern Methodological Aspects of the Organization of the Selection Process in Horticulture and Viticulture (Sovremennyye metodologicheskie aspekty organizatsii selektsionnogo protsesssa v sadovodstve i vinogradarstve)*. Krasnodar; 2012. p.3-46. [in Russian] (Егоров Е.А. Актуализация приоритетов в селекции плодовых, ягодных, орехоплодных культур и винограда для субъектов Северного Кавказа. В кн.: *Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве*. Краснодар; 2012. С.3-46).
- Egorov E.S. (ed.). Program of the North Caucasus Center for the selection of fruit, berry, flower and ornamental crops and grapes for the period until 2030 (Programma Severo-Kavkazskogo tsentra po selektsii plodovykh, yagodnykh, tsvetochno-dekorativnykh kultur i vinograda na period do 2030 goda). Krasnodar; 2013. [in Russian] (Программа Северо-Кавказского центра по селекции плодовых, ягодных, цветочно-декоративных культур и винограда на период до 2030 года / под общ. ред. Е.А. Егорова. Краснодар; 2013).
- Ferlemi A.V., Lamari F.N. Berry Leaves: An Alternative Source of Bioactive Natural Products of Nutritional and Medicinal Value. *Antioxidants*. 2016;5(2):17. DOI: 10.3390/antiox5020017
- Hernandez-Bautista A., Lobato-Ortiz R., Garcia Zavala J.J., Rocandio-Rodriguez M., Mejia-Contreras J.A., Chavez-Servia J.L., Garcia Velazquez J.A. Relationship of parental genetic distance with agronomic performance, specific combining ability, and predicted breeding values of raspberry families. *Euphytica*. 2018;214:37. DOI: 10.1007/s10681-018-2122-6
- Hoover E., Luby J., Bedford D. Yield components of primocane-fruiting red raspberries. *Acta Horticulturae*. 1989;183:163-166.
- Kazakov I.V. Raspberry, blackberry (Malina, ezhevika). Moscow: AST Publishing House LLC; Kharkiv: Folio Publishing House; 2001. [in Russian] (Казаков И.В. Малина, ежевика. Москва: АСТ; Харьков: Фолио; 2001).
- Kazakov I.V., Aitzhanova S.D., Evdokimenko S.N., Sazanov F.F., Kulagina V.L., Andronova N.V. Berry cultures in the Central region of Russia (Yagodnyye kultury v Tsentralnom regione Rossii). Moscow: All-Russian Horticultural Institute for Breeding, Agrotechnology and Nursery; 2016. [in Russian] (Казаков И.В., Айтжанова С.Д., Евдокименко С.Н., Сазанов Ф.Ф., Кулагина В.Л., Андропова Н.В. Ягодные культуры в Центральном регионе России. Москва : ВСТИСП; 2016).
- Kulkhanova D.S., Plaksina T.V., Borodulina I.D. Remontant raspberry varieties' propagation *in vitro*. *Izvestiya of Altai State University Journal*. 2012;75(3-5):42-45. [in Russian] (Кульханова Д.С., Плаксина Т.В., Бородулина И.Д. Размножение *in vitro* ремонтантных сортов малины. *Известия Алтайского государственного университета*. 2012;75(3-5):42-45).
- Parsons M., Simpson M., Ponton T. Raspberry leaf and its effect on labour: Safety and efficacy. *Australian College of Midwives Incorporated Journal*. 1999;12(3):20-25. DOI: 10.1016/S1031-170X(99)80008-7
- Podorozhny V.N. The viability of raspberry and blackberry explants depending on the time of initiation to *in vitro* culture and the size of explants. *Biotechnology in fruit growing: Proceedings of the International Scientific Conference; 2016 June 13-17; Samokhvalovichy*. Samokhvalovichy: Institute for Fruit Growing; 2016. p.82-84. [in Russian] (Подорожный В.Н. Жизнеспособность эксплантов малины и ежевики в зависимости от сроков ввода в культуру и их размера. *Биотехнология в плодородстве: материалы международной научной конференции; аг. Самохваловичи, 13-17 июня 2016*. Самохваловичи: Ин-т плодородства; 2016. С.82-84).
- Podorozhnyi V.N. Scientific organization of the production of marketable raspberries by peasant and farm households of the Krasnodar Territory: methodological guidelines (Nauchnaya organizatsiya proizvodstva tovarnoy maliny v krestyanskikh i fermerskikh khozyaystvakh Krasnodarskogo kraia: metodicheskiye rekomendatsii). Krymsk; 2017. [in Russian] (Подорожный В.Н. Научная организация производства товарной малины в крестьянских и фермерских хозяйствах Краснодарского края: методические рекомендации. Крымск; 2017).
- Podorozhnyi V.N., Mayorova Yu.A. A method for *in vivo* adaptation of sour and sweet cherry rootstocks in a two-layer substrate (Sposob adaptatsii *in vivo* klonovykh podvoev dlya vishni i cheresni v dvukhsloynnom substrate). *Pomiculture and small fruits culture in Russia*. 2011;26:322-327. [in Russian] (Подорожный В.Н., Майорова Ю.А. Способ адаптации *in vivo* клоновых подвоев для вишни и черешни в двухслойном субстрате. *Плодородство и ягодоводство России*. 2011;26:322-327).
- Popov Yu.G. Improvement and reproduction of fruit and berry plants by the method of meristem-tip culture: methodological guidelines (Ozdorovleniye i razmnzheniye plodovykh i yagodnykh rasteniy metodom kultury meristematicheskikh verkhushkek: metodicheskiye ukazaniya). Moscow; 1979. [in Russian] (Попов Ю.Г. Оздоровление и размножение плодовых и ягодных растений методом культуры меристематических верхушек:

- методические указания. Москва; 1979).
- Prichko T.G., Droficheva N.V., Podorozhnyi V.N., Khilko L.A. Biochemical characteristic of raspberry varieties grown in the south of Russia. In: *Selection and cultivation of garden crops: collection of scientific works. Vol. 2: Competitive varieties and technologies for highly efficient horticulture: Proceeding of the international scientific and practical conference dedicated to the 170th anniversary of VNIISPК; 2015 June 2-5; Orel.* Orel: All-Russian Research Institute of Fruit Crops Breeding; 2015. p.148-151. [in Russian] (Причко Т.Г., Дрофичева Н.В., Подорожный В.Н., Хилько Л.А. Биохимическая характеристика сортов малины, произрастающих на юге России. В кн.: *Селекция и сорто-разведение садовых культур: сборник научных работ. Т. 2: Конкурентоспособные сорта и технологии для высокоэффективного садоводства: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 170-летию ВНИИСПК; Оrel, 2-5 июня 2015 г.* Оrel: ВНИИСПК; 2015. С.148-151).
- The Program and Methodology of Variety Studies of Fruit, Berry and Nut-bearing crops. Orel: VNIISPК; 1999. 606 с. [in Russian] (Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур. Оrel: ВНИИСПК; 1999. 606 с.).
- Skovorodnikov D.N. Features of *in vitro* clonal micropropagation and acceleration of new perpetual raspberry forms breeding (Osobennosti klonalnogo mikrorazmnozheniya *in vitro* i uskoreniye selektsii novykh remontantnykh form maliny) [dissertation]. Bryansk; 2004. [in Russian] (Сковородников Д.Н. Особенности клонального микроразмножения *in vitro* и ускорение селекции новых ремонтантных форм малины: дис. ...канд. биол. наук. Брянск; 2004.).
- Sønsteby A., Heide O.M. Effects of photoperiod and temperature on growth and flowering in the annual (primocane) fruiting raspberry (*Rubus idaeus* L.) cultivar 'Polka'. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 2009;84(4):439-446. DOI: 10.1080/14620316.2009.11512546
- Yushev A.A., Sorokin N.A., Tikhonova O.A., Orlova S.Yu., Kislina E.N., Radchenko O.E., Pupkova N.A., Shlyavas A.V. A collection of genetic resources of fruit and berry plants: preservation, augmentation, study: methodological guidelines (Kollekcija genetičeskikh resursov plodovyh i jagodnyh rastenij: sohranenie, popolnenie, izučenie: Metodicheskie ukazanija). A.A. Yushev, I.G. Chukhina (eds.). St. Petersburg: VIR; 2016. [in Russian] (Юшев А.А., Сорокин А.А., Тихонова О.А., Орлова С.Ю., Кислин Е.Н., Радченко О.Е., Пупкова Н.А., Шлявас А.В. Коллекция генетических ресурсов плодовых и ягодных растений: сохранение, пополнение, изучение: методические указания / под ред. А.А. Юшева, И.Г. Чухиной. Санкт-Петербург; 2016).

ВЛИЯНИЕ СРОКОВ ИЗОЛЯЦИИ ЗАРОДЫШЕЙ НА ВЫХОД СЕЯНЦЕВ СОРТОВ ВИШНИ ОБЫКНОВЕННОЙ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ *IN VITRO*

Коваленко Н.Н.*, Поливара Н.В.

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Крымская опытно-селекционная станция – филиал ВИР, 353384 Россия, г. Крымск, ул. Вавилова, 12;

* ✉ kross67@mail.ru

Перед селекционерами стоит задача наиболее быстрого выведения сортов вишни обыкновенной *Prunus cerasus* L., которые смогут заполнить нишу среди «страховых» плодовых косточковых культур, дополнив уже имеющийся сортимент. Ускорить этот процесс практически невозможно без применения культуры *in vitro*. В связи с этим, в задачу данных исследований входило выявление наиболее благоприятных сроков изоляции зародышей сортов вишни кислой и гибридов ее с черешней для их активного развития и роста *in vitro*. Анализ литературных источников и полученных в настоящем исследовании результатов позволяет заключить, что сроки изоляции зародышей для ввода в культуру *in vitro* играют очень важную роль для процесса дальнейшего успешного культивирования. В связи с различием таких сроков предложена «точка отсчета» – дата оплодотворения (опыления), а при свободном опылении – массовое цветение. Приведены параметры (высота и ширина) семени вишни в зависимости от срока опыления. Вместе с семядолями, зародыши сортов вишни обыкновенной 14-го дня своего развития соответствуют размерам от 1,2 × 0,4 мм до 1,6 × 1,0 мм и, при нормальном оплодотворении, к 28-30-у дню увеличиваются в своем размере от 6,5 × 5,1 мм до 7,2 × 6,3 мм в среднем. В тоже время, семя с зародышем гибридных сортов вишни (дюков) достигает более высоких значений: 11,3 × 8,1 мм. При вводе в культуру зародышей вишни следует ориентироваться на их размер, а также на срок, прошедший от опыления. Выявлено, что сроки изоляции, как ранние, на 14-19-й день, так и поздние, на 44-52-й день, отрицательно влияют на развитие зародышей: они останавливаются в развитии, и, при этом, количество полученных сеянцев снижается. Экспериментально доказано, что наиболее оптимальными сроками забора плодов для выращивания гибридов вишни *in vitro* является период с 28-го по 32-й день после опыления цветков: активное развитие у них наблюдали на 10-15-й день в пробирках, и большинство из них (83-85%) начали прорастать через 40 дней (на 39-47-й день после ввода в культуру *in vitro*). В целом это приводит к эффективности проводимой гибридизации и ускорению получения сеянцев в тот же год.

Ключевые слова: зародыши, вишня, сроки изоляции, развитие, инфицированность, проростки, *in vitro*, культивирование.

Для цитирования:

Коваленко Н.Н., Поливара Н.В. Влияние сроков изоляции зародышей на выход сеянцев сортов вишни обыкновенной при культивировании *in vitro*. *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(1):25-35. DOI: 10.30901/2658-6266-2021-1-03

Прозрачность финансовой деятельности. Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. **Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.** **Дополнительная информация.** Полные данные этой статьи доступны <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-1-03> **Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы. Все авторы одобрили рукопись. Конфликт интересов отсутствует.**

Благодарности: Работа выполнена с использованием коллекции генетических ресурсов растений ВИР (VIR Collections of Plant Genetic Resources) в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0662-2019-0004 «Коллекции вегетативно размножаемых культур (картофель, плодовые, ягодные, декоративные, виноград) и их диких родичей ВИР – изучение и рациональное использование».

EFFECT OF THE TIMING OF EMBRYO ISOLATION ON THE OUTPUT OF SEEDLINGS OF SOUR CHERRY VARIETIES WHEN CULTIVATED *IN VITRO*

N.N. Kovalenko*, N.V. Polivara

Krymsk Experiment Breeding Station of VIR, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources,
12 Vavilova Street, Krymsk 353384, Russia;

* ✉ kross67@mail.ru

The breeders are faced with the task of the fastest breeding of sour cherry (*Prunus cerasus* L) varieties, which will be able to fill a niche among the insurance stone fruit crops, complementing the existing assortment. It is practically impossible to speed up this process without the use of *in vitro* culture. In this regard, the purpose of the present study was to identify the most favorable timing for isolating embryos of sour cherry varieties and hybrids with sweet cherry for embryos active development and growth *in vitro*. Analysis of the literature data and the results obtained in this study allows a conclusion that the timing of embryos isolation for their introduction into *in vitro* culture plays a very important role for the entire breeding process. Due to the discrepancy in defining the timing, a certain starting point is proposed, which is the date of fertilization (artificial pollination), or mass flowering in the case of free pollination. The parameters (height and width) of sour cherry seeds, which depend on the period of pollination, are given. Together with the cotyledons, the embryos of sour cherry varieties on the 14th day of their development correspond to sizes from 1.2×0.4 mm to 1.6×1.0 mm and, in the case of normal fertilization, increase in size from 6.5×5.1 mm to 7.2×6.3 mm by day 28-30, on an average. At the same time, the seed with the embryo of hybrid sour cherry varieties (dukes) reaches higher values, e.g., 11.3×8.1 mm. When introducing cherry embryos into culture, one should focus on their size, as well as on the period that has passed from pollination. It was found that the periods of isolation, both early on day 14-19 and late on day 44-52, negatively affect the development of embryos: they stop their development, and the number of the obtained seedlings decreases. It has been experimentally proven that the most optimal timing of fruit picking for growing cherry hybrids *in vitro* is the period from day 28 to 32 after pollination of flowers: active development was observed in them on days 10-15 in test tubes, and most of them (83-85%) began to germinate 40 days later (on day 39-47 after the introduction into *in vitro* culture). In general, this leads to the efficient hybridization and accelerated obtaining of seedlings in the same year.

Key words: embryos, sour cherry, isolation time, development, infection rate, seedlings, *in vitro*, cultivation.

For citation:

Kovalenko N.N., Polivara N.V. Effect of the timing of embryo isolation on the output of seedlings of sour cherry varieties when cultivated *in vitro*. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(1):25-35. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-1-o3

Financial transparency. The authors have no financial interest in the presented materials or methods.

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. Additional information.

Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-1-o3> **The journal's opinion is neutral to the presented materials, the author, and his or her employer. All authors approved the manuscript. No conflict of interest.**

ORCID ID:

Kovalenko N.N. <https://orcid.org/0000-0002-5287-7635>

УДК 634.233:581.143.6

Поступила в редакцию: 17.01.2021

Принята к публикации: 21.03.2021

Acknowledgments: The work was carried out using the VIR collections of plant genetic resources in the framework of the State Assignment according to the Thematic Plan of VIR, Project No. 0662-2019-0004 “VIR collections of vegetatively propagated crops (potato, fruit, berry, ornamental crops, grapes) and their wild relatives; their study and rational utilization”.

Введение

Вишня обыкновенная *Prunus cerasus* L.¹ – ценная, очень распространенная плодовая культура в России. Ее сорта занимают особое место в современном садоводстве и, наряду с сортами черешни (*Prunus avium* L.¹), составляют отдельное сообщество, имеющее свою зону возделывания, как в любительских, так и в промышленных садах.

Почвенно-климатические условия Краснодарского края позволяют возделывать практически все плодовые косточковые культуры. Но при экстремальных условиях климата большинство из них, таких как персик, абрикос, черешня, остаются без урожая, а сорта вишни плодоносят, благодаря чему могут занять место среди «страховых» (Zaremuk, 2010). К сожалению, в данное время площади занятые вишней значительно сокращены, что связано с отсутствием сортов, обладающих необходимыми признаками для возделывания: устойчивостью к основным вредоносным заболеваниям, крупноплодностью и урожайностью. В связи с этим селекция на создание более продуктивных скороплодных и устойчивых сортов вишни продолжается во многих научных учреждениях, в том числе и на Крымской опытно-селекционной станции – филиале ВИР (Eremin et al., 2009; Kolesnikova, 2014; Yushev, 2012).

Гибридное потомство от внутривидовых скрещиваний, не говоря уже о скрещиваниях межвидовых, в которые вовлечены представители сортов вишни и сортов черешни, в полевых условиях получить очень сложно, а зачастую и невозможно из-за постгамной несовместимости. Получение и культивирование гибридных зародышей вишни в условиях *in vitro* дает возможность ускорить появление новых гибридных форм (Gusev, 2012; Kovalenko, Gladkih, 2019).

Современная биотехнология растений этого направления пополняется новыми знаниями о составе применяемых искусственных питательных сред (Zdruikovskaya-Richter, 1964; Plaksina et al., 2013; Kukharchik et al., 2006; Asanica et al., 2016) и обеззараживающих препаратов, позволяющих снизить уровень инфицированности зародышей (Podorozhnyi, 1998; Kovalenko, Polivara, 2020; Plaksina, 2016). При всей значимости вышеприведенных задач, решаемых биотехнологами в процессе работы, выход селекционного материала оказывается невысоким. К объективным причинам низкого выхода сеянцев следует отнести не только инфицированность возбудителями различных болезней, но и поражение семян семяедами (Kovalenko, Gladkih, 2020). Поэтому в опытах по культи-

вированию зародышей *in vitro* очень важна предварительная оценка качественного состояния семян.

Для успешного культивирования зародышей *in vitro* большое значение имеет сформированность семени, что напрямую зависит от эффективности процесса оплодотворения (Bradbury, 1925; Roberts, 1925; Kamlah, 1928; Kovalenko, Gladkih, 2020). Эти факторы являются решающими при определении как сроков изоляции плодов, так и самих зародышей на различных стадиях их развития. Дифференцировка зародыша на почечку, корешок и семядоли происходит через 50-55 дней после оплодотворения (Balla, Brozih, 1996; Plaksina et al., 2013). Поэтому из семян, имеющих возраст до 30-ти дней после опыления, очень редко удается получить проростки.

Этапам эмбриогенеза соответствуют характерные морфологические изменения, связанные с воздействием внешних условий и самого оплодотворения (Spitsin, 1998; Plaksina, 2016; Woo, Wetzstein, 2008). Как считают многие исследователи, подобные изменения вполне можно объединить в четкие стадии развития (Zdruikovskaya-Richter, 1964; Balla, Brozik, 1996; Dulic et al., 2016; Plaksina, 2016). В связи с этим, вопрос о наиболее оптимальных сроках изоляции завязи и последующего ввода зародыша в культуру *in vitro* является до сих пор неразрешенным, и мнения различных авторов по этому вопросу неоднозначны. Так, в своих работах А.И. Здруйковская-Рихтер (Zdruikovskaya-Richter, 1962; 1964) считает, что нужно производить съем плодов черешни и персика при достижении зародышем 1/3-1/2 объема семени, поскольку, если зародыш занимает меньший объем (1/5-1/4 части полости) – проростки погибают на ранних стадиях их развития. Существует и другое мнение по этому поводу. М.С. Чеботарева считает, что для культивирования зародышей вишни наиболее благоприятным является срок их изоляции на ранней стадии развития – на 19-22-й день, к этому периоду относят стадии развития зародыша «сердечко» и «торпеда» (Chebotareva, 1990). Зарубежные ученые, работая с культурой зародышей сортов черешни, показали, что зародыши успешно поддаются культивированию при их вычленении из недозрелых плодов «желто-зеленой» стадии (Kukharchik et al., 2006; Woo, Wetzstein, 2008; Dulic et al., 2016; Asanica et al., 2016).

Основная часть подобных работ для рода *Cerasus* Mill.¹ (*Prunus* L.) посвящена черешне (Zdruikovskaya-Richter, 1964; Spitsin, 1998; Balla, Brozik, 1996; Asanica et al., 2016; Dulic et al., 2016; Kovalenko, Gladkih, 2020), а также вишне степной (Plaksina et al., 2013; Plaksina, 2016), хотя есть работы, в которых исследованы и другие виды вишни (Chebotareva, 1990; Kukharchik et al., 2006;

¹ От Редактора: Авторский вариант латинского названия вишни обыкновенной *Cerasus vulgaris* Mill. был частично заменен на *Prunus cerasus* L., поскольку является не используемым в международной литературе синонимом последнего. Существуют два основных мнения о систематическом положении видов вишни: некоторые исследователи принимают их в составе подрода рода *Prunus*, в то время как другие исследователи принимают виды вишни в качестве самостоятельного рода *Cerasus* Mill. (Yandovka, 2015). *Cerasus avium* (L.) Moench является синонимом *Prunus avium* L.

Editor's note: The author's version of the Latin name *Cerasus vulgaris* Mill. was partially replaced by *Prunus cerasus* L. as it is a synonym of the latter that is not currently used in international literature. There are two main views on the systematic position of cherry species: several researchers treat them as part of the subgenus *Prunus*, and the other consider cherry species as a separate genus (Yandovka, 2015). *Cerasus avium* (L.) Moench is a synonym of *Prunus avium* L.

Gusev, 2012;). Во всех имеющихся исследованиях на данный вопрос было обращено очень мало внимания, и о результатах опытов судили почти исключительно по количеству полученных семян. До настоящего времени не было установлено число дней, которое должно пройти после оплодотворения, и какими должны быть оптимальные условия для изоляции и успешного культивирования зародыша. Важными факторами при этом являются размер зародыша и сроки его высадки на искусственную питательную среду, что, в свою очередь, зависит от родовой, видовой и сортовой принадлежности растений рода *Cerasus* Mill. (*Prunus* L.)¹

Цель исследования заключалась в оптимизации процесса выращивания семян сортов вишни в культуре *in vitro*, в связи с чем первоочередной задачей было определить наиболее благоприятные сроки изоляции зародышей для их активного роста и развития в культуре.

Материалы и методы

Исследования проводили в лаборатории биотехнологии и биохимии Крымской ОСС филиала ВИР (2018-2020 годы) с использованием ранее опубликованных методов (Zdruikovskaya-Richter, 1962; Dzhigadlo et al., 2005)

и методик, разработанных нами (Kukharchik et al., 2006; Kovalenko et al., 2020).

Учитывали время массового цветения, а также дату опыления. Время изоляции зародышей в опытах соответствовало срокам в 19, 23, 28, 32, 36, 40, 44, 48 и до 52-х дней с момента опыления.

Для стерилизации плодов, косточек и семян использовали мыльный раствор, последующее ополаскивание водой и обработку хлорсодержащим водным раствором (Део Хлор®, Део, Россия). Скарификацию и стерилизацию ядра косточки от поверхностной сапрофитной микрофлоры производили двухфазным способом (Kovalenko, Polivara, 2020). При этом в первой фазе использовали водный раствор Део Хлор® (3,4 г на 210 мл воды с экспозицией 8 мин., с последующей 3-х кратной промывкой стерильной дистиллированной водой по 5 минут), а во второй фазе использовали перекись водорода (3%, в течение трех минут).

Зародыши культивировали в стерильных пробирках размером 21,0 × 140 мм. В опытах использовали агаризированную питательную модифицированную среду на основе прописи Мурасиге и Скуга, 1962 (Murashige, Skoog, 1962), дополненную фитогормонами и витаминами, состав которой представлен в таблице 1.

Таблица 1. Состав использованный в работе модифицированной питательной среды Мурасиге и Скуга (1962) (M&S)

Table 1. Composition of the Murashige and Skoog (1962) (M&S) modified nutrient medium used in this study

| Название реактива / Reagent name | Единица измерения / Measure unit | Количество реактива / Reagent quantity |
|----------------------------------|----------------------------------|--|
| Макросоли | по прописи M&S | |
| Хелат железа | по прописи M&S | |
| Микроэлементы | по прописи M&S | |
| <i>Фитогормоны</i> | | |
| 6-Бензиламинопури́н (6-БАП) | мг/л | 0,5 |
| гибберелловая кислота (ГК) | | 0,2 |
| индолилмасляная кислота (ИМК) | | 0,2 |
| <i>Витамины</i> | | |
| тиамин (В ₁) | мг/л | 0,5 |
| пиридоксин (В ₆) | | 0,5 |
| никотиновая кислота (PP) | | 0,5 |
| аскорбиновая кислота (С) | | 1,0 |
| <i>Другие компоненты</i> | | |
| сахароза | г/л | 30 |
| агар-агар | | 7,0 |
| pH | | 5,6 ÷ 5,8 |

С целью определения оптимальных условий изоляции зародышей для культуры *in vitro* были взяты 12 коллекционных сортообразцов различного генетического происхождения, а именно сорта вишни обыкновенной: 'Тургеневка', к-25278; 'Любская', к-18335; 'Шишевская', к-5536; 'Шахзада', к-43792. Были также исследованы гибриды вишни с черешней: 'Игрушка', к-34138; 'Чудо Вишня', к-42141; 'Эрди Крупноплодная', к-16826А; 'Красавица Ребокура', к-11910, 'Превосходная Веняминова', к-42272; 'Южная Красавица', к-24010; 'Малышка', к-26395; 'Эффективная', к-43794. Зародыши высаживали в стерильных условиях ламинар-боксов (ВЛ-12, Tehnosom, Россия). Культивирование зародышей осуществляли в стационарных условиях 16-ти часового фотопериода в специализированном светозале в пробирках, помещенных в штативы, установленные на стеллажах. Повторность опытов была двукратная, по 20 пробирок с одним зародышем в каждой из них. Для освещения использовали лампы дневного света ЛД-40 (Лисма, Россия), по две лампы на 1 м², которые создавали интенсивность светового потока 3 тысячи люкс. Температура воздуха в светозале поддерживалась на уровне +24±1°C.

Для анализа достоверности влияния факторов «сорт» и «срок ввода в культуру» проводили дисперсионный анализ с использованием статпакета Statistica 13.3.

Результаты и обсуждение

Многолетние наблюдения за развитием цветковых почек, фенофазами (ФФ) цветения и созревания плодов вишни в климатических условиях Предгорной зоны Краснодарского края – территория Крымской ОСС фили-

ала ВИР – позволили установить, что условия окружающей среды в период раскрытия цветковых почек и цветения влияют на эффективность оплодотворения. Благоприятными для оплодотворения являются повышенная температура воздуха, безветренная и недождливая погода. Результатом успешного оплодотворения является большое количество завязей, однако их опадение на разных стадиях развития приводило к снижению количества зрелых плодов.

Плодоводы всегда уделяли большое внимание изучению причин опадения завязей, однако результаты ранних исследований зачастую остаются без внимания со стороны биотехнологов. Дороти Брэдбери (Bradbury, 1925) выявила, что опадение плодов черешни и вишни происходит в «три волны». Это было подтверждено и работами других исследователей (Crane, 1923; Roberts, 1925). Плоды, опадающие в первые «две волны», легко отличимы от остающихся на ветках дерева (до третьей волны или до их созревания). Анатомические исследования таких плодов показывают, что опыление не произошло вследствие слабого роста пыльцевой трубки или дегенерации яйцеклетки. Такие плоды опадают вместе с чашечкой сразу после цветения. Второе опадение плодов обусловлено абортивностью зародышевого мешка или гибелью зародыша, что приводит к остановке развития плодов и дальнейшему их «высыханию». Третья волна опадения плодов связана с абортацией зародыша и эндосперма на более поздней стадии развития из-за недостаточного питания. Перечисленные выше три фракции плодов не представляют интерес для селекционера-биотехнолога, поскольку не содержат зародышей, пригодных для культивирования *in vitro*.

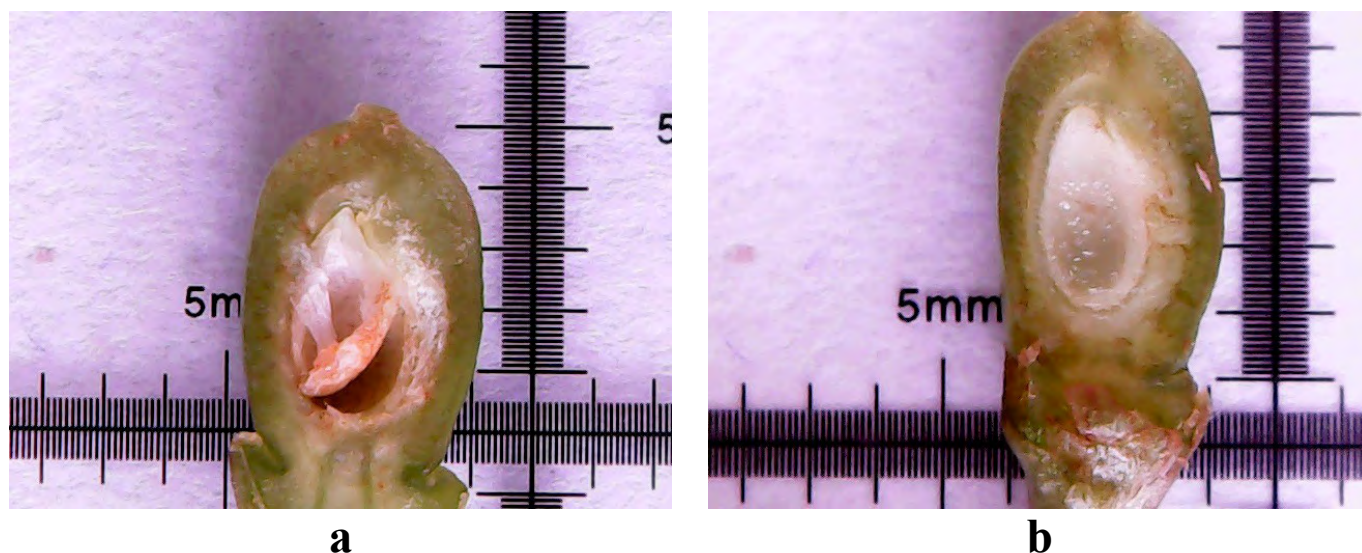


Рис. 1. Дефектность семян вишни во время их роста, в результате (а) неполноценного опыления, (б) вследствие повреждения семяедом (фотографии 2019 года)

Fig. 1. Defects of growing sour cherry seeds resulting from (a) imperfect pollination, (b) seed-eater damage (photos from 2019)

Опадание плодов, связанное с дефективностью яйцевого аппарата или несовместимости с пыльцой, заканчивается через 2-3 недели после опыления, или на 14-20-й день от массового цветения. Именно к этому периоду приурочен установленный нами первый срок, 19-й день, для съема плодов и введения зародышей в культуру *in vitro*.

Анатомические исследования развития плодов этого периода показали, что внутри ядра косточки могут находиться кладки и личинки семяеда (Kovalenko, Gladkikh, 2020). Стерилизация плодов и косточек приводит к гибели вредителей, однако вызванные семяедами повреждения зародышей и семядолей (рис. 1) являются причиной снижения выхода сеянцев в культуре *in vitro*.

На первом этапе работ по определению оптимальных сроков ввода зародышей в культуру *in vitro*, начиная с 19-го дня после опыления, и далее (на 23, 28, 32 и 36-й дни), в связи с большим объемом опытов, было использовано пять сортов, представленных в таблице 2. Дисперсионный анализ показал, что между сортами не было достоверных различий по проценту проросших зародышей (уровень значимости различий $p=0,887$).

Результаты опытов по срокам изоляции зародышей напрямую связаны с периодами опадения плодов и количеством проросших зародышей *in vitro*. Плоды вишни, собранные на 28-32-й день после оплодотворения, имели семена с более жизнеспособными зародышами, и выход сеянцев в этих вариантах был более высоким (в среднем по сортам 23,2% на 28-й день и 48,9% на 32-й день), чем на 19-23-й день (2,6 и 14,7%, соответственно). Процент

проросших зародышей достоверно различался между сроками введения в культуру *in vitro* ($p=0,000$), все сроки отличаются друг от друга достоверно ($p<0,023$). Введенные в культуру *in vitro* зародыши на 19-й и на 23-й день после опыления в своем большинстве были неполноценными (неоплодотворенные или частично оплодотворенные), что, к сожалению, в дальнейшем отрицательно влияло на выход сеянцев.

Плоды вишни, отобранные для эксперимента на стадии технической и полной зрелости (на 44-48-й и на 52-55-й день, соответственно), имели хорошо сформированные семядоли и зародыши («выполненное семя»), или же семядоли были «сухими» («пустое семя»).

Для селекции важно количество полученных сеянцев, что непосредственно зависит от активного развития самих зародышей. Развитие зародышей может начаться уже через две недели после ввода их в культуру *in vitro*, или же в период от восьми месяцев культивирования до одного года. Поэтому возможно получать сеянцы (микрорастения) уже в год опыления, или только через год-полтора. В таблице 3 показано влияние сроков изоляции зародышей вишни на их развитие в культуре *in vitro*. Поскольку различий между сортами не было, то мы отобрали по два сорта на каждый срок. Дисперсионный анализ показал, что срок изоляции достоверно повлиял на все изученные параметры развития: количество дней до начала развития первых зародышей ($p=0,000$), последних зародышей ($p=0,000$); процент проросших зародышей ($p=0,000$), инфицированных зародышей ($p=0,018$), оставшихся в покое ($p=0,000$).

Таблица 2. Влияние сроков изоляции зародышей вишни на выход проростков в культуре *in vitro*, 2018-2019 гг.

Table 2. Influence of the timing of sour cherry embryos isolation on the yield of seedlings in *in vitro* culture, 2018-2019

| Сорт/ Variety | Доля проросших зародышей, %, изолированных в определенный срок (указан день после опыления)/ Fraction of germinated embryos, %, isolated within a certain period (date after pollination) | | | | |
|---------------|--|------|------|------|------|
| | 19 | 23 | 28 | 32 | 36 |
| ‘Любская’ | 5,0 | 17,0 | 25,5 | 56,5 | 45,0 |
| ‘Шишевская’ | 0,0 | 12,0 | 21,0 | 44,0 | 35,0 |
| ‘Шахзада’ | 3,0 | 14,5 | 22,0 | 39,0 | 31,0 |
| ‘Тургеневка’ | 4,0 | 17,0 | 27,5 | 59,0 | 51,0 |
| ‘Игрушка’ | 1,0 | 13,0 | 20,0 | 46,0 | 39,0 |

Зародыши, введенные в культуру *in vitro* на 28-32-й день, начали развиваться на 10-15-й день в условиях светозала; в случае введения в культуру на 36-44-й день зародыши стали развиваться на 18-23-й день, а зародыши 48-52-го дня – через 25-34 дня. Активное их развитие происходит в течение 39-47-и дней (зародыши, имеющие срок посадки на культуральную среду 28-32-й

день) и 80-93 дня в случае срока посадки на 48-52-й день. Остальная часть зародышей (от 11 до 38 %) перешла в стадию покоя.

Результаты опытов 2018-2019 годов по выявлению активности прорастания в культуре *in vitro* зародышей из семян сортов вишни, в зависимости от сроков изоляции зародышей, представлены на рисунке 2.

Таблица 3. Влияние сроков изоляции зародышей вишни на их развитие в культуре *in vitro*, 2019-2020 гг.

Table 3. Influence of the timing of sour cherry embryos isolation on their development in *in vitro* culture, 2019-2020

| Сорт вишни/ Variety of sour cherry | Количество дней до начала развития зародышей/ Number of days prior to the start of embryo development | | Доля зародышей (%), от введенных в культуру <i>in vitro</i> / Fraction of embryos (%) of introduced <i>in vitro</i> | | |
|---------------------------------------|--|-----------------|--|-----------------------------|---------------------|
| | первых/ first | последних/ last | развившихся/ developed | инфицированных/ infected | в покое/ dormant |
| ввод в культуру на 28-й день | | | | | |
| ‘Любская’ | 13,0 | 47,0 | 80,0 | 6,0 | 14,0 |
| ‘Шишевская’ | 15,0 | 45,0 | 84,0 | 4,0 | 12,0 |
| ввод в культуру на 32-й день | | | | | |
| ‘Тургеневка’ | 10,0 | 39,0 | 86,0 | 3,0 | 11,0 |
| ‘Шахзада’ | 12,0 | 42,0 | 85,0 | 2,0 | 13,0 |
| ввод в культуру на 36-й день | | | | | |
| ‘Чудо Вишня’ | 19,0 | 49,0 | 76,0 | 5,0 | 19,0 |
| ‘Игрушка’ | 18,0 | 50,0 | 72,0 | 11,0 | 17,0 |
| ввод в культуру на 40-й день | | | | | |
| ‘Эффективная’ | 21,0 | 69,0 | 69,0 | 5,0 | 26,0 |
| ‘Эрди Крупноплодная’ | 20,0 | 60,0 | 71,0 | 5,0 | 24,0 |
| ввод в культуру на 44-й день | | | | | |
| ‘Красавица Ребокура’ | 23,0 | 73,0 | 65,0 | 7,0 | 28,0 |
| ввод в культуру на 48-й день | | | | | |
| ‘Игрушка’ | 25,0 | 80,5 | 58,5 | 11,0 | 30,0 |
| ‘Малышка’ | 25,0 | 80,0 | 59,0 | 10,0 | 31,0 |
| ввод в культуру на 52-й день | | | | | |
| ‘Превосходная Веняминова’ | 30,0 | 89,0 | 50,0 | 13,0 | 37,0 |
| ‘Южная Красавица’ | 34,0 | 93,0 | 44,0 | 18,0 | 38,0 |

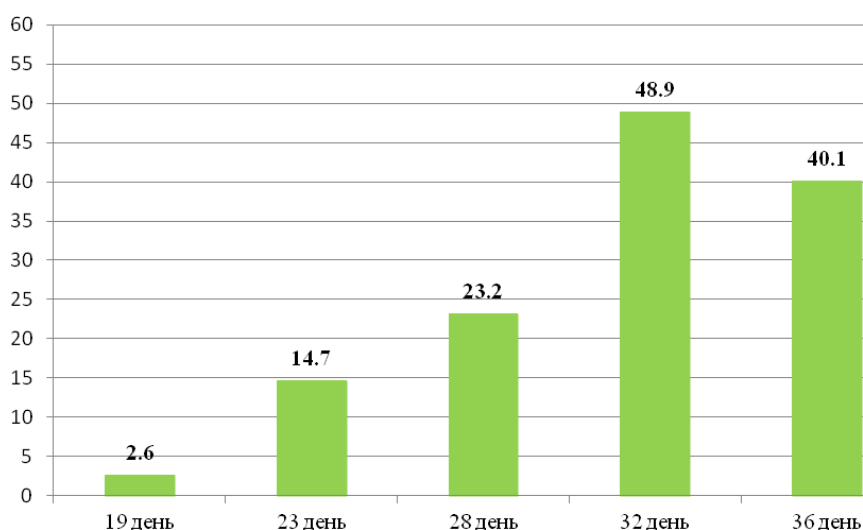


Рис. 2. Активность прорастания зародышей сортов вишни в зависимости от сроков их введения в культуру *in vitro*, в среднем за 2018-2019 гг.

Fig. 2. Germination activity of embryos of sour cherry varieties, depending on the timing of introduction into *in vitro* culture, average for 2018-2019

Как видно на представленной диаграмме, количество проросших зародышей на однотипной питательной искусственной среде в одинаковых условиях напрямую зависит от срока их введения в культуру *in vitro*. При этом количество развитых сеянцев составило 2,6% от общего количества зародышей, высаженных на 19-й день изоляции. Далее было отмечено постепенное увеличение значений этого показателя (14,7%, 23,2%), достигшего 48,9% на 32-й день. Была выявлена прямая зависимость значений этого показателя от срока изоляции зародыша, но она

сохраняется только до срока 36-й день со времени опыления. С этого периода наблюдается спад активности прорастания зародышей *in vitro* до 40,1% (см. рис. 2).

В дальнейших исследованиях введение зародышей в культуру *in vitro* начинали только с 28-го дня от момента опыления цветков, но диапазон сроков изоляции плодов был увеличен до 52-х дней с интервалом в четыре дня. Полученные данные показали, что наиболее оптимальное время для вычленения зародыша – это 32-й день (рис. 3).

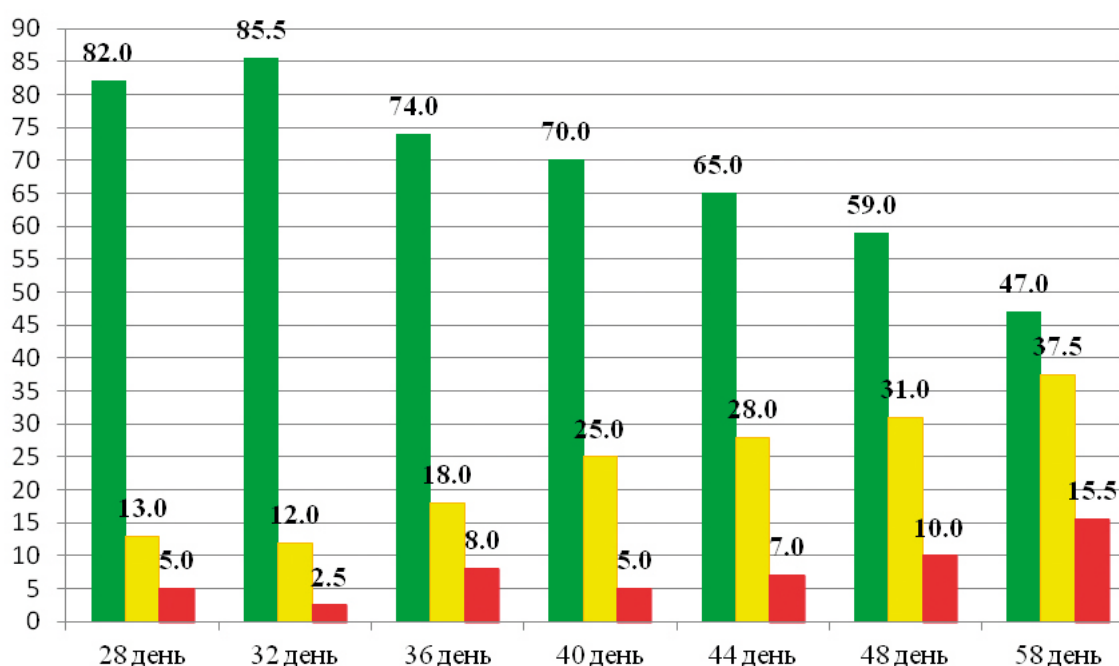


Рис. 3. Зависимость развития проростков от сроков введения в культуру *in vitro* зародышей вишни, в среднем за 2019-2020 гг.

Примечание:

процент зародышей
■ - развившихся
■ - в покое
■ - инфицированных

Fig. 3. Dependence of seedling development on the timing of sour cherry embryos introduction into *in vitro* culture, average for 2019-2020

Note:

Percentage of embryos
■ - developed
■ - at rest
■ - infected

Семена из зрелых плодов (на 52-й день и более), имея хорошо развитые семядоли и зародыши, могут войти в «стадию покоя» и не показать быстрого развития *in vitro*. Количество инфицированных зародышей также было минимальным (2,5%) в этот период. Затем наблюдается постепенный спад активности развития проростков. Доли сеянцев от введенного в культуру *in vitro* от числа зародышей составили 74,0; 70,0; 65,0; 59,0 и 47,0% в разные сроки, соответственно. Инфицированность зародышей оставалась примерно в одних и тех же пределах 2,5÷8% до срока посадки от 48-го до 52-го дня от опыления. В этом варианте опыта (48-й–52-й день от опыления) процент семян, пораженных инфекцией, увеличился до 10,5-15,5%.

Примененный в 2019-2020 годах двухфазный способ обеззараживания плодов, косточек и семян вишни (перед культивированием), заключающийся в последовательном воздействии раствора хлора и перекиси водорода (Kovalenko, Polivara, 2020), позволил увеличить выход здоровых зародышей и снизить их инфицированность.

Произведенные промеры показали, что на 14-й день своего развития зародыши в полноценно сформированных плодах были очень маленькие и вместе с семядолями достигали размеров от 1,2 до 1,6 мм в высоту и от 0,4 до 1,0 мм в ширину, а к 28-30-му дням семя значительно увеличивалось в размерах, достигая 6,5-7,2 мм в высоту и 5,1-6,3 мм в ширину (рис. 4).

В сроки сбора плодов вишни, оптимальные для инициации культуры *in vitro* (30-32-й день), семя имеет широкоовальную форму и заключено в плотную семенную оболочку с параметрами в среднем $8,3 \times 6,3$ мм. В те же сроки, дюки (гибриды вишни и черешни) имеют более крупные косточку и семя, последнее занимает практически всю полость косточки. Размер косточки в этот период развития у гибридов составляет в среднем $11,3 \times 8,1$ мм. Анализ морфологических признаков плодов вишни, их зависимости от срока изоляции зародышей для ввода их в культуру *in vitro* и периодов прорастания зародышей свидетельствует в пользу изоляции зародыша из семени более зрелого плода, то есть на 28-32-й день, когда семя занимает большую часть полости косточки, а не на 19-23-й день.

Более поздние сроки посадки зародышей на питательную среду также возможны. Однако, если зародыши вводить в культуру на 36-48-й день, то, в таком случае, они часто входят в стадию покоя, и до начала их развития может пройти от полугода до года. При этом наблюдается потеря большинства сеянцев из-за внутренней инфицированности, что в случае работы с гибридами, практически сводит на нет усилия, направленные на их получение.

В целом, необходимо отметить, что эффективность работы по созданию селекционного фонда вишни обыкновенной и её гибридов с черешней (дюков) можно повысить путем использования культуры зародышей *in vitro*.

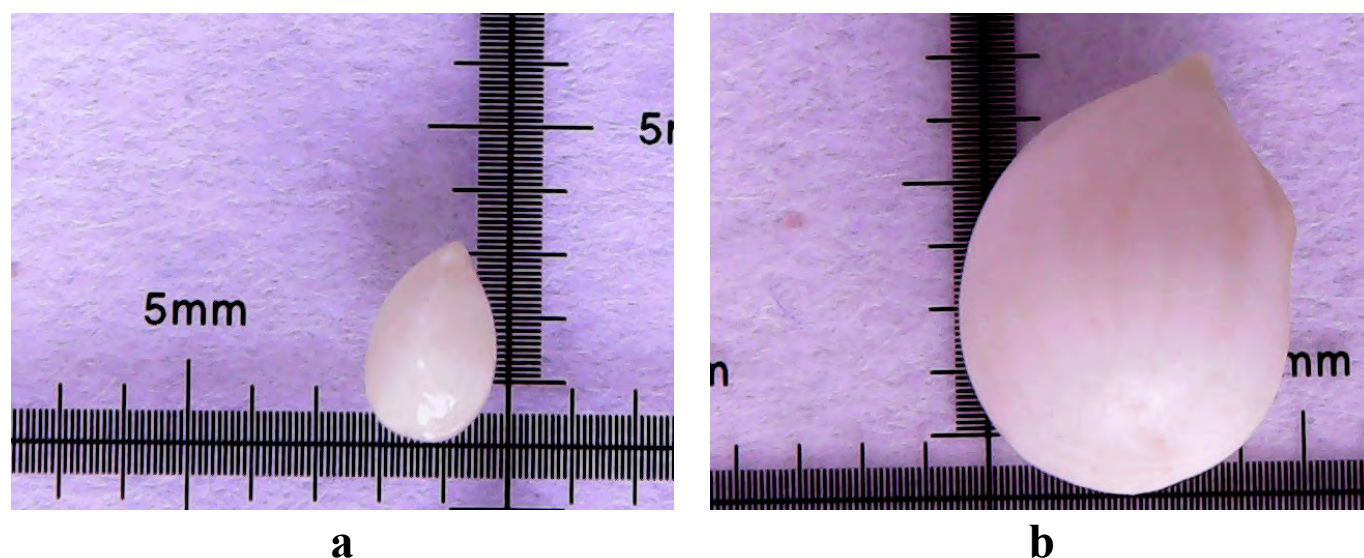


Рис. 4. Изолированное семя сортов вишни обыкновенной: (а) на 25-й и (b) на 30-й день развития, 2019 г.

Fig. 4. Isolated seed of sour cherry varieties: (a) 25th and (b) 30th day of development, 2019

Заключение

При выведении новых сортов вишни с использованием культуры *in vitro* остро стоял вопрос о сроках ввода зародышей в культуру. Анализ данных литературы и опыты по изоляции зародышей из семян на различных сроках их развития позволили выяснить причины плохого развития зародышей. К числу таких причин следует отнести частичное или неполное оплодотворение, а также поражение семяедами.

В связи с различием сроков ввода зародышей вишни в культуру *in vitro* и для удобства регистрации данных при работе с культурой предложена «точка отсчета» – дата оплодотворения (опыления), а при свободном опылении – массовое цветение.

Приведены параметры (размеры) семени вишни в зависимости от срока, отсчитываемого от даты опыления: на 14-й и 28-й день развития семян.

Зародыши, высаженные на модифицированную среду Мурасиге и Скуга (1962) с добавлением биологически активных веществ, имели различный период до начала их развития в культуре *in vitro*. Активное развитие (на 10-15-й день культивирования) наблюдали у зародышей вишни, введенных в культуру на 28-32-й день после опыления, большинство зародышей в этой выборке начали прорасти в течение 39-47-и дней культивирования.

Нами установлено, что сроки прорастания зародышей семян вишни при культивировании *in vitro* пропорциональны срокам их введения в культуру, отсчитываемым от момента оплодотворения: чем раньше введены в культуру, тем раньше начинают прорасти, то есть, если зародыши введены в культуру *in vitro* на 36-44-й день от момента оплодотворения, то их прорастание на искусственной среде произойдет в период от 18 до 23-х дней от начала культивирования; зародыши изолированные из семян на 48-55-й день – прорастали через 25-34 дней культивирования. В течение 80-и – 93-х дней культивирования происходило массовое прорастание зародышей в культуре *in vitro*, при этом часть зародышей (от 11 до 37%) входило в стадию покоя.

Нами показано, что дата оптимального срока ввода в культуру *in vitro* зародышей разных сортов вишни соответствует периоду от 28-го до 32-го дня после оплодотворения цветков. Развитие зародышей наблюдается уже на 10-15-й день, большинство из них (83-85% от числа высаженных), выходят из покоя через 39-47 дней и начинают активный рост.

Таким образом, сроки изоляции зародышей в значительной степени влияют на выход сеянцев сортов вишни обыкновенной при культивировании их *in vitro*. Для дальнейшей успешной работы в этом направлении следует брать зародыши на 28-32-й день после опыления, что в случае работы с гибридами приводит к высокой эффективности их получения и ускорению селекционного процесса минимум на 1,5 года.

References/Литература

- Asanica A., Tudor V., Plopa C., Sumedrea V., Peticila A., Teodorescu R., Tudor V. *In vitro* embryo culture of some sweet cherry genotypes. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*. 2016;10:172-177. DOI: 10.1016/j.aaspro.2016.09.049
- Balla I., Brozik S. Embryo culture of sweet cherry hybrids. *Acta Horticulturae*. 1996;410:385-386. DOI: 10.17660/Acta Horticulturae.1996.410.60
- Bradbury D. Notes on the dropping of immature sour cherry fruits. In: *Proceedings of the American Society for Horticultural Science (1924-25)*. The American Society for Horticultural Science; 1925. p.105-110.
- Crane M.B. Report on tests of self-sterility and cross-incompatibility in plums, cherries and apples at the John Innes Horticultural Institution.-II. *Journal of Pomology and Horticultural Sciences*. 1923;3(2):67-84. DOI: 10.1080/03683621.1923.11513252
- Chebotaeva M.S. *In vitro* culture of germs of the genus *Cerasus* Mill. in breeding for coccomycosis resistance. *Nauchno-tekhnicheskiiy Bulletin VIR = Scientific and Technical Bulletin of VIR*. 1990;204:26-30. [in Russian] (Чеботарева М.С. Культура зародышей *in vitro* рода *Cerasus* Mill. в селекции на устойчивость к коккомикозу. *Научно-технический бюллетень ВИР*. 1990;204:26-30).
- Dulić J., Ognjanov V., Ercisli S., Miodragović M., Barać G., Ljubović M., Dorić D. *In vitro* germination of early ripening sweet cherry varieties (*Prunus avium* L.) at different fruit ripening stages. *Erwerbs-Obstbau* 2016;58:113–118. doi: 10.1007/s10341-016-0265-y
- Dzhigadlo G.V., Dzhigadlo M.I., Golyshkina L.V. Methodological recommendations on the use of biotechnological methods in work with fruit, berry and ornamental crops (Metodicheskie rekomendatsii po ispolzovaniyu biotekhnologicheskikh metodov v rabote s plodovymi, jagodnymi i dekorativnymi kulturami). Orel; 2005. [in Russian] (Джигадло Г.В., Джигадло М.И., Гольшклина Л.В. Методические рекомендации по использованию биотехнологических методов в работе с плодовыми, ягодными и декоративными культурами. Орел; 2005).
- Eremin G.V., Alekhina E.M., Kruzhkov A.V., Eremina O.V. Catalog of Certificates of Donors and Sources of Breeding-significant Traits of Cherries and Sweet Cherries (Katalog pasportov donorov i istochnikov selektsionno-znachimyykh priznakov vishni i chershni). Krymsk; 2009. [in Russian] (Еремин Г.В., АLEXИНА Е.М., Кружков А.В., Еремина О.В. Каталог паспортов доноров и источников селекционно-значимых признаков вишни и черешни. Крымск; 2009).
- Gusev D.A. Application of the *in vitro* method for obtaining cherry and micro-cherry polyploids: (Primeneniye metoda *in vitro* dlya polucheniya poliploidov vishni i mikroviszni). In: *Stone fruits in horticulture and ornamental gardening (Kostochkovye kul'tury v sadovodstve i dekorativnom ozelenenii. Sb. materialov IV Vserossiiskogo syezda sadovodov): Proceedings of IV All-Russian Congress of Gardeners*; Chelyabinsk; 2012. p.39-42. [in Russian] (Гусев Д.А. Применение метода *in vitro* для получения полиплоидов вишни и микровишни. В кн.: *Косточковые культуры в садоводстве и декоративном озеленении: Сборник материалов IV Всероссийского съезда садоводов*. Челябинск; 2012:39-42).
- Kamlah H. Untersuchungen über die Befruchtungsverhältnisse bei Kirschen- und Birnensorten. *Kühn-Archiv*. 1928;19. [In German]
- Kolesnikova A.F. Breeding of common cherries in the past and present (Selektsiya vishni obyknovennoy v proshlom i nastoyashchem). Orel; 2014. [in Russian] (Колесникова А.Ф. Селекция вишни обыкновенной в прошлом и настоящем). Орел; 2014).
- Kovalenko N.N., Gladkih S.V. *In vitro* cultivation of the embryos of hybrid forms of early-ripening sweet cherry (*Prunus avium* L.) varieties. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(6):765-771. [in Russian] (Коваленко Н.Н., Гладких С.В. Культивирование зародышей *in vitro* гибридов ранозревающих сортов черешни (*Prunus avium* L.). *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2019;23(6):765-771). DOI: 10.18699/VJ19.550

- Kovalenko N.N., Polivara N.V. Improvement of the method of obtaining the genus *Prunus* L. saprophytic microflora free embryo for *in vitro* culture. *Fruit growing and viticulture of South of Russia*. 2020;63(3):107-120. [in Russian] (Коваленко Н.Н., Поливарова Н.В. Совершенствование способа получения свободных от сапрофитной микрофлоры зародышей рода *Prunus* L. для культуры *in vitro*. *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 2020;63(3):107-120). DOI: 10.30679/2219-5335-2020-3-63-107-120
- Kovalenko N.N., Polivara N.V., Gladkih S.V. Obtaining interspecific hybrids of stone fruit crops by biotechnological methods. Scientific Methodological Guide (Poluchenie mezhdvidovyyh gibridov kostochkovykh plodovyyh kultur biotekhnologicheskimi metodami. Nauchno-metodicheskoye posobie). Krasnodar; 2020. [in Russian] (Коваленко Н.Н., Поливарова Н.В., Гладких С.В. Получение межвидовых гибридов косточковых плодовых культур биотехнологическими методами: научно-методическое пособие. Краснодар; 2020). DOI: 10.30901/978-5-93491-854-6.
- Kovalenko N., Gladkih S. Evaluation of seeds quality in the process of embryo cultivation *in vitro*. *BIO Web of Conferences*. 2020;25:04002. DOI: 10.1051/bioconf/20202504002
- Kukharchik N.V., Kastritskaya M.S., Pugacheva R.M. A technique for cultivation of isolated cherry and plum embryos (Metodika kultivirovaniya izolirovannykh zarodyshy vishni i slivy). *Fruit growing*. 2006;18(2):157-162. [in Russian] (Кухарчик Н.В., Кастритская М.С., Пугачева Р.М. Методика культивирования изолированных зародышей вишни и сливы. *Плодоводство*. 2006;18(2):157-162).
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology of Plants*. 1962;15:473-497.
- Plaksina T.V., Kulkhanova D.S., Matkova E.Yu. The culture of isolated embryos in breeding of cherry. *Achievements of Science and Technology in Agro-Industrial Complex*. 2013;7:17-19. [in Russian] (Плаксина Т.В., Кульханова Д.С., Маткова Е.Ю. Культура изолированных зародышей *in vitro* в практической селекции вишни. *Достижения науки и техники АПК*. 2013;7:17-19).
- Plaksina T.V. Embryo culture and multiplication *in vitro* of frutescent cherry (*Prunus fruticosus* Pall.). In: *Proceedings of the VII International Scientific and Practical Conference on Biotechnology as an Instrument for Plant Biodiversity Conservation (physiological, biochemical, embryological, genetic and legal aspects), dedicated to the 30th anniversary of the Biotechnology Department of the Nikitski Botanical Garden; 2016 25 Sep. - 1 Oct.; Yalta. Simferopol*; 2016. p.116. [in Russian] (Плаксина Т.В. Эмбриокультура и микроразмножение *in vitro* вишни степной (*Prunus fruticosus* Pall.). В кн.: *Материалы VII Междунар. науч.-практ. конф. «Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного материала (физиолого-биохимические, эмбриологические, генетические и правовые аспекты), посвящ. 30-летию отдела биотехнологии Никитского ботанического сада, Ялта, 25 сент.–1 окт. 2016*. Симферополь; 2016. С.116).
- Podorozhnyi V.N. Mercury iodide as a surface-sterilizing substance in the work with tissue culture of fruit plants. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 1998;153:69-72. [in Russian] (Подорожный В.Н. Йодид ртути как поверхностно-стерилизирующее вещество в работе с культурой ткани плодовых растений. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 1998;153:69-72).
- Roberts R.H. Pollination and the dropping of apples. *American Fruit Grower*. 1925;45.
- Spitsin I.P. The use of *in vitro* embryo culture in the study of genetics of embryogenesis, seed and fruit formation in some plants of the genus *Cerasus*. In: *The use of biotechnological methods for solving genetic breeding problems: collection of articles and reports. XVIII Michurin Readings; 1997 Oct. 27-29*. Michurinsk; 1998. p.96-98. [in Russian] (Спицин И.П. Использование культуры зародыша *in vitro* в изучении генетики эмбриогенеза, семя- и плодообразования некоторых растений рода *Cerasus*. В кн.: *Использование биотехнологических методов для решения генетико-селекционных проблем: сборник докладов и сообщений XVIII Мичуринских чтений, 27-29 окт. 1997*. Мичуринск; 1998. С.96-98).
- Woo S.M., Wetzstein H.Y. Morphological and histological evaluations of *in vitro* regeneration in *Elliottia racemosa* leaf explants media with thidiazuron. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 2008;133:167-172.
- Yandovka L.F. On the systematic status of sour and sweet cherry species (Rosaceae) (Sostoyaniye voprosa o sistematicheskom položeniyy vidov vishni i chereshni (Rosaceae). *Izvestia Herzen University Journal of Humanities & Sciences*. 2015;173:125-132. [in Russian] (Яндовка Л.Ф. Состояние вопроса о систематическом положении видов вишни и черешни (Rosaceae). *Известия Российского государственного педагогического университета им. А.И. Герцена*. 2015;173:125-132).
- Yushev A.A. The species and varietal potential of sour cherry genetic stocks at VIR (Vidovoy i sortovoy potentsial vishni genofonda VIR). In: *Stone fruits in horticulture and ornamental gardening (Kostochkovye kultury v sadovodstve i dekorativnom ozelenenii. Sb. materialov IV Vserossiyskogo syezda sadovodov): Proceedings of IV All-Russian Congress of Gardeners*; Chelyabinsk; 2012. p.105-111. [in Russian] (Юшев А.А. Видовой и сортовой потенциал вишни генофонда ВИР. В кн.: *Косточковые культуры в садоводстве и декоративном озеленении: сб. материалов IV Всероссийского съезда садоводов*. Челябинск; 2012. С.105-111).
- Zaremuk R.Sh. Productivity of a variety is the basis of the technology of intensive sour cherry cultivation: problems of intensive gardening. In: *Materials of the expanded meeting of the Academic Council, dedicated to 100th anniversary of the birth of Dr. Agric. Sci. Trusevich Gavriil Vladimirovich: scientific works*. Krasnodar; 2010. p.110-116. [in Russian] (Заремук Р.Ш. Продуктивность сорта – основа интенсивной технологии возделывания вишни: проблемы интенсивного садоводства. В кн.: *Материалы расширенного заседания Ученого совета, посвященного 100-летию со дня рождения д-ра с.х.н. Трусевича Гавриила Владимировича: научные труды*. Краснодар; 2010. С.110-116).
- Zdruikovskaya-Richter A.I. Isolated embryos culture and some other techniques of growing plants *in vitro*: methodological recommendations (Kultura izolirovannykh zarodyshy i nekotoryye drugie priemy vyrashchivaniya rasteniy *in vitro*: metodicheskiye rekomendatsii). Moscow; 1962. [in Russian] (Здруйковская-Рихтер А.И. Культура изолированных зародышей и некоторые другие приемы выращивания растений *in vitro*: методические рекомендации. Москва; 1962).
- Zdruikovskaya-Richter A.I. Embryo culture under artificial conditions as a method of breeding early-ripening varieties of sweet cherry, peach, and pear (Kultura zarodyshy v iskusstvennykh usloviyakh kak metod seleksii ranosozrevayushchikh sortov chereshni, persika i grushi). *Proceedings of the State Nikitski Botanical Gardens*. 1964;37:256-259. [in Russian] (Здруйковская-Рихтер А.И. Культура зародышей в искусственных условиях как метод селекции раносозревающих сортов черешни, персика и груши. *Научные труды государственного Никитского ботанического сада*. 1964;37:256-259).

ГЕН *rolC* АГРОБАКТЕРИЙ: НА ПУТИ К ПОНИМАНИЮ ФУНКЦИИ

Хафизова Г.В.*, Матвеева Т.В.

Санкт-Петербургский государственный университет,
190000 Россия, Санкт-Петербург, Университетская набережная, 7–9;

* ✉ galina.khafizova@gmail.com

В процессе агротрансформации в растение попадает фрагмент плазмиды почвенной бактерии *Agrobacterium rhizogenes* Conn в результате чего под действием генов, входящих в состав данного фрагмента, у растения разрастается корневая система. Основные гены, контролирующие разрастание корней, объединяют в «корневой локус». Самым хорошо изученным геном «корневого локуса» является ген *rolC*. За более чем 30-летнюю историю исследований, посвященных гену *rolC*, были получены данные по его экспрессии, локализации и предполагаемых функциях белка, а также о его влиянии на морфологические и биохимические особенности растений. Так известно, что трансформация геном *rolC* приводит к множественным морфологическим эффектам, среди которых чаще всего встречаются карликовость, кустистость и изменение формы листовой пластинки. Подобные реакции растений связывают с изменением баланса гормонов, происходящим под влиянием *rolC*. Показано, что у трансформированных растений действительно изменяется количество ауксинов, цитокининов, а также абсцизовой кислоты, однако эти данные не складываются в единую картину. Также не установлены сигнальные пути, по которым *rolC* может воздействовать на гормональную систему растений. Морфогенетические эффекты могут проявляться в различной степени в зависимости от того, под контролем какого промотора работает *rolC*. Использование конститутивного промотора обычно приводит к более выраженному проявлению признаков, чем при работе гена под нативным промотором. Также показано влияние *rolC* на вторичный метаболизм растений. У трансформантов происходит активация синтеза различных метаболитов и, в отличие от морфогенетических эффектов, данный биохимический эффект не зависит от промотора, под которым экспрессируется ген. Некоторые вторичные метаболиты связаны с защитной системой растений. Таким образом, *rolC* способен опосредованно влиять и на этот аспект физиологии растений. В данном обзоре собраны результаты исследований, посвященных гену *rolC* в растениях, авторы попытались сформулировать основные гипотезы, связанные с механизмами работы гена, с целью приблизить читателей к пониманию его функции в растениях.

Ключевые слова: *Agrobacterium rhizogenes*, *rolC*, Т-ДНК, вторичный метаболизм.

Для цитирования:

Хафизова Г.В., Матвеева Т.В. Ген *rolC* агробактерий: на пути к пониманию функции. *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(1):36-46. DOI: 10.30901/2658-6266-2021-1-04

Прозрачность финансовой деятельности. Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. **Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.** **Дополнительная информация.** Полные данные этой статьи доступны <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-1-04> **Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы. Все авторы одобрили рукопись. Конфликт интересов отсутствует.**

Благодарности: Данная работа поддержана грантом РНФ 21-14-00050 «Агробактериальная трансформация в эволюции растений».

THE *rolC* GENE OF AGROBACTERIA: TOWARDS THE UNDERSTANDING OF ITS FUNCTIONS

Khafizova G.V.*, Matveeva T.V.

Saint Petersburg State University,
7/9 Universitetskaya Emb., St. Petersburg 199034, Russia;

* ✉ galina.khafizova@gmail.com

Agrobacterium rhizogenes Conn is a soil bacterium, which can transform plants by inserting a plasmid fragment into the plant genome. This fragment contains a “root locus”: four genes that cause root overgrowth of the transformed plant, the so-called “hairy root syndrome”. The most studied gene of the root locus is *rolC*. For more than 30 years of research on this gene, data have been obtained on its expression, protein localization and putative functions of the protein as well as on its effect on plant morphology and biochemistry. The *rolC* transformation leads to multiple morphological effects, most common among which are dwarfism, bushiness, and a change in the shape of the leaf blade. Such specific plant reactions are associated with changes in hormone balance under the influence of *rolC*. The levels of auxins, cytokinins, and abscisic acid do change in transformed plants, but no regularities have been revealed. Also, the signaling pathways of *rolC* affecting the hormonal system of plants are not established. Morphogenetic effects can occur in varying degrees depending on the promoter under which the *rolC* works. A constitutive promoter usually leads to a more pronounced effect when compared to a gene that operates under a native promoter. Secondary plant metabolism is also affected by *rolC*. The synthesis of various metabolites is amplified in transformants, and, in contrast to morphological effects, this biochemical effect does not depend on the promoter. Some secondary metabolites are associated with the plant defense system; thus, *rolC* is able to indirectly influence this aspect of plant physiology. This review summarizes the results of the *rolC* gene studies in plants. The authors formulate the main hypotheses regarding the mechanisms of the gene in order to promote our understanding of its function in plants.

Key words: *Agrobacterium rhizogenes*, *rolC*, T-DNA, secondary metabolism.

For citation:

Khafizova G.V., Matveeva T.V. The *rolC* gene of agrobacteria: towards the understanding of its functions. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(1):36-46. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-1-04

Financial transparency. The authors have no financial interest in the presented materials or methods.

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. Additional information.

Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-1-04> **The journal's opinion is neutral to the presented materials, the author, and his or her employer. All authors approved the manuscript. No conflict of interest.**

ORCID ID:

Khafizova G.V. <https://orcid.org/0000-0001-5333-9380>

Matveeva T.V. <https://orcid.org/0000-0001-8569-6665>

УДК 575.8

Поступила в редакцию: 18.02.2021

Принята к публикации: 22.03.2021

Acknowledgments: The work was supported by the RSF, grant 21-14-00050 “Agrobacterial transformation in plant evolution”.

Введение

Почвенные бактерии *Agrobacterium rhizogenes*¹ Conn. (Sawada et al., 1993) способны поражать растения, встраивая в растительный геном фрагмент своей плазмиды (Т-ДНК), вызывая тем самым образование “бородатого корня” (Riker et al., 1930; Sawada et al., 1993; Young et al., 2001). Разрастание корневой массы происходит под воздействием генов, входящих в состав Т-ДНК. Ключевыми участниками процесса формирования корней у трансформированных растений являются гены *rolA*, *rolB*, *rolC* и *rolD*, формирующие «корневой локус» (англ. «root locus», отсюда и название генов – *rol*) (White et al., 1983; Cardarelli et al., 1987; Spina et al., 1987). Ген *rolC* является наиболее изученным из всех генов локуса, накоплены данные по его экспрессии в различных тканях и органах растения, локализации белка и предполагаемых функциях, влиянии на морфологические и биохимические особенности растений, однако эти данные не складываются в единую картину. Морфогенетические эффекты у трансформированных растений могут проявляться по-разному, в зависимости от того, какое растение было трансформировано геном *rolC*. Так, у растений культурного табака, несущих конструкцию 35S CaMV-*rolC* (для экспрессии гена *rolC* использован промотор вируса мозаики цветной капусты 35S CaMV), развиваются светло-зеленые ланцетовидные листья и мелкие цветки (Schmülling et al., 1988; 1993), в то время как у картофеля, трансформированного 35S CaMV-*rolC*, размер цветков и форма листовой пластинки не меняется, но при этом уменьшается размер листьев (Fladung, 1990). Морфогенетические реакции также различаются в зависимости от того, под контролем какого промотора работает ген. Листовые экспланты *Kalanchoe daigremontiana* Raym.-Hamet & H.Perrier (Schmülling et al., 1988) и культурного табака *Nicotiana tabacum* L. (Spina et al., 1987), трансформированные конструкцией 35S-*rolC*, образуют корни, тогда как активность *rolC* под влиянием собственного промотора в этих же растениях не приводит к подобному эффекту. В отличие от 35S CaMV, нативный промотор гена *rolC* тканеспецифичен (Matsuki et al., 1989; Sugaya et al., 1989; Nagata et al., 1995; Graham et al., 1997; Hu et al., 2003), и его активность меняется с возрастом растения (Guivarch et al., 1996), чем можно объяснить различия в эффектах гена. Помимо связи *rolC* с морфогенетическими процессами показано его влияние на вторичный метаболизм растений, при этом пути передачи сигнала не установлены и не зафиксирован “эффект промотора”. В трансформированных растениях и в культурах растительных клеток *rolC* как под нативным, так и под конститутивным промотором, способен стимулировать выработку различных алкалоидов (Bonhomme et al., 2000; Palazón et al., 1998a;b), гинсенозидов (Bulgakov et al.,

1998) и антрахинонов (Bulgakov et al., 2002; 2003; Shkryl et al., 2008). Внимания также заслуживает участие *rolC* в метаболизме сахаров: так, например, известно, что *rolC* активируется сахарозой (Nilsson, Olsson, 1997), а трансформанты, несущие *rolC*, способны накапливать крахмал (Mohajjel-Shoja et al., 2011). Механизмы данных процессов не установлены, но активно изучаются.

Помимо растений-трансформантов, полученных в лабораториях, существуют природно-трансгенные растения, которые содержат *rol*-подобные гены, гомологичные агробактериальным *rol*-генам. Полученные некогда от агробактерий в результате горизонтального переноса генов, они закрепились в растительных геномах и передаются при размножении следующим поколениям (White et al., 1983; Matveeva et al., 2012; Kyndt et al., 2015; Matveeva, Otten, 2019). По результатам сравнительного анализа таких последовательностей у природно-трансгенных видов рода *Nicotiana* самым консервативным геном является *rolC* (Intrieri, Buiatti, 2001), который часто сохраняется в геноме растения практически в неизменном виде (Matveeva et al., 2012; Pavlova et al., 2013; Chen et al., 2014). Значение активного *rolC* для природно-трансгенных растений также еще предстоит выяснить, в настоящее время предполагают его участие в процессах регенерации, в повышении адаптационных возможностей растения, а также его устойчивости к фитопатогенам (Chen, Otten, 2017).

Несмотря на то, что эффекты *rol*-генов активно изучают уже более тридцати лет, на сегодняшний день еще не сложилось четкого понимания функций гена *rolC* и механизмов его действия. В данном обзоре мы попытались охватить и структурировать накопленные данные о различных аспектах, касающихся *rolC* у растений. Анализ подобного рода данных будет полезен для планирования и проведения дальнейших исследований в этой области.

Таким образом, у трансгенных растений, содержащих *rolC*, описаны изменения фенотипа на биохимическом и морфологическом уровне. Некоторые из них проявляются независимо от использованного промотора, от которого может зависеть лишь степень проявления признака. В других случаях тип промотора влияет на проявление признака, которое можно описать в терминах «присутствие / отсутствие».

В данном обзоре мы разделяем эффекты *rolC* на две группы: независимые от промоторной последовательности и зависимые от промотора.

Эффекты, независимые от промоторной последовательности

К эффектам *rolC*, независимым от промотора, можно отнести изменения во вторичном метаболизме растений,

¹ От Редактора: в тексте сохранен Авторский вариант синонимичного названия бактерии *Rhizobium rhizogenes* (Young et al., 2001) *Agrobacterium rhizogenes* / Editor's note: The author's version of the synonymous name of *Rhizobium rhizogenes* (Young et al., 2001), *Agrobacterium rhizogenes*, was retained in the text.

такие как повышение синтеза ряда метаболитов, а также усиление защитных свойств растений за счет снижения количества активных форм кислорода. Среди многочисленных морфогенетических эффектов *rolC* можно также выделить те, что проявляются вне зависимости от промотора, под которым экспрессируется ген *rolC*.

Влияние *rolC* на вторичный метаболизм показано для различных видов растений, однако молекулярные механизмы еще не описаны. Палазоном и коллегами была предложена гипотеза о непосредственном влиянии *rolC* на синтез вторичных метаболитов путем усиления биосинтетической активности растения, а также гипотеза об опосредованном воздействии на биосинтез алкалоидов путем стимуляции роста растения (Palazón et al., 1997; 1998a). Для трансформантов *Nicotiana tabacum*, несущих гены *rolC*, *rolB* и *rolA* под собственными промоторами, а также для растений *N. tabacum* с конструкцией 35S CaMV-*rolC*, была отмечена положительная корреляция экспрессии *rolC* с уровнем биосинтеза никотина и показателем биомассы корней. При этом в корнях, трансформированных *rolABC*, уровень биосинтеза был выше, чем в корнях, несущих 35S CaMV-*rolC* (Palazón et al., 1998a). Обратная картина показана для *Catharanthus roseus* (L.) G.Don, где показатель биомассы корней отрицательно коррелирует с уровнем экспрессии *rolC* и с количеством синтезируемых индольных алкалоидов (Palazón et al., 1998b). Таким образом, одни данные подтверждают, а другие опровергают гипотезу об опосредованном воздействии *rolC* на биосинтез вторичных метаболитов. Ген *rolC* также способен стимулировать выработку тропановых алкалоидов (Bonhomme et al., 2000), гинсенозидов (Bulgakov et al., 1998), антрахинонов (Bulgakov et al., 2002; 2003; 2008; Shkryl et al., 2008), полифенолов (Dubrovina et al., 2010; Ismail et al., 2016) и лактонов (Dilshad et al., 2015). В исследовании о влиянии *rolC* на тропановые алкалоиды показано, что в корнях *Atropa belladonna* L., трансформированных *rolC*, содержание гиосциамина и скополамина в 12 раз превосходит норму по сравнению с нетрансформированными корнями, однако морфологические параметры корней в данной работе не определяли (Bonhomme et al., 2000). Доводом в пользу гипотезы о непосредственном влиянии *rolC* на синтез вторичных метаболитов является повышение экспрессии гена изохоризматсинтазы в ответ на повышение уровня экспрессии *rolC*. Изохоризматсинтаза является ключевым ферментом биосинтеза антрахинонов (Shkryl et al., 2008). То же наблюдается в трансформированных растениях *Eritrichium sericeum* (Lehm.) A.DC. для метаболитов кофейной кислоты (Inyushkina et al., 2009) и в 35S CaMV-*rolC* *Vitis amurensis* Rupr. для ресвератрола – полифенола с антиоксидантными свойствами (Dubrovina et al., 2010). Для данной гипотезы был предложен конкретный механизм, основанный на эффекте сайленсинга. Экспрессия генов, кодирующих ферменты-участники вторичного метаболизма, обычно регулируется (подавляется) с помощью

миРНК. Продукт гена *rolC*, возможно, нарушает этот процесс, в результате чего экспрессия генов возрастает и растение более активно синтезирует вторичные метаболиты. Для *rolC* пока не было получено прямых доказательств данной гипотезы, однако они были получены для другого гена корневого локуса – *rolB* (Bulgakov et al., 2016). На сегодняшний день неизвестно, как именно *rolC* активирует биосинтез в растении, однако показано, что повышенная активность, приобретенная трансформантами, сохраняется в течение длительного периода. Увеличенное в 2-4 раза содержание антрахинона в трансформированных каллусах *Rubia cordifolia* L. сохраняется более 5 лет (Bulgakov et al., 2002). Уровень дифференцировки клеток, по-видимому, не влияет на стимулирующий эффект *rolC*, поскольку Булгаков с соавторами не нашли существенных различий в количествах гинсенозидов в трансформированных каллусах, и в регенерировавших из них корнях *Panax ginseng* С.А.Мей. При этом, среди независимых трансформантов выявлена 4-кратная разница в концентрации алкалоидов, что может быть обусловлено как индивидуальными особенностями растения, так и возможными различиями в степени активации биосинтеза под влиянием *rolC* (Bulgakov et al., 1998).

Влияние *rolC* на содержание активных форм кислорода. Помимо активации вторичных метаболических процессов *rolC* может способствовать усилению защитных реакций растений. Способность нейтрализовать активные формы кислорода (АФК) *in vivo* показана для антрахинонов *R. cordifolia*. Можно было бы предположить, что *rolC* влияет на количество АФК в растении посредством активации синтеза антрахинонов. Однако, анализ сигнальных путей в *rolC*-трансформированных каллусах *R. cordifolia* показал, что процессы синтеза антрахинона и продукции активных форм кислорода, скорее всего, разобщены (Bulgakov et al. 2004, 2008). Так было показано, что у трансформантов *rolC* снижено содержание активных форм кислорода (пероксинитрита, пероксида водорода и гидропероксильных радикалов), что является одним из путей повышения устойчивости растений к стрессу (Shkryl et al., 2010; Bulgakov et al., 2013). Также описано повышение устойчивости *rolC*-трансформантов к фитопатогенам. Так трансформированный картофель, несущий 35S CaMV-*rolC* устойчив к таким возбудителям гнили, как *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. и *Botrytis cinerea* Pers. (Fladung, Gieffers, 1993), а клубника – к фитопатогене *Phytophthora cactorum* (Lebert & Cohn) J. Schröt. (Landi et al., 2009). Подобные эффекты гена *rolC* могут быть полезны для получения устойчивых форм сельскохозяйственных растений, а также для получения растений-продуцентов вторичных метаболитов, представляющих интерес для человека. Сигнальные пути запуска вторичного метаболизма и механизма защиты под влиянием *rolC* требуют дальнейшего изучения, в частности, для усиления контроля эффектов гена. В некоторой степени подобного контроля удалось достичь для морфогенетических эффектов *rolC*, среди

которых выделяют как те, чье проявление зависит от промотора, под которым работает ген в растении, так и независимые от промоторной последовательности эффекты.

Морфогенетические эффекты *rolC*. Наиболее часто встречающимися морфогенетическими эффектами *rolC* являются: снижение апикального доминирования, карликовость и общая ювенилизация растений. Также наблюдаются ускоренный переход к стадии цветения и снижение фертильности пыльцы (Schmülling et al., 1988; Scorza et al., 1994; Michael, Spena, 1995; Guivarch et al., 1996; Bell et al., 1999; Tzfira et al., 1999). Эти признаки проявляются вне зависимости от того, под контролем какого промотора работает ген *rolC*. Однако от промотора зависит степень проявления признаков. Так трансформанты *N. tabacum*, несущие *rolC* с нативным промотором, становятся низкорослыми, в то время как растения 35S CaMV-*rolC* – карликовыми, то есть под влиянием конститутивного промотора признак проявляется более выражено (Schmülling et al., 1988). Снижение длины побегов формируется за счет уменьшения размера эпидермальных клеток в междоузлиях и, как следствие, укорочения

междоузлий (Schmülling et al., 1988; Oono et al., 1990). Морфогенетические эффекты, проявление которых зависит от промоторной последовательности, а также обсуждение возможных механизмов развития морфоэффектов у трансформированных растений описано в следующем разделе обзора.

Эффекты, зависящие от промоторных последовательностей

Морфогенетические эффекты *rolC* могут различаться в зависимости от того, какое растение трансформировано, а также от того, под каким промотором ген работает в растении. Помимо перечисленных в предыдущем разделе признаков, у трансформантов описаны различные изменения цветков и листьев, кустистость побегов. Кустистость и увеличение количества цветков могут быть следствием усиленного ветвления побегов (Kurioka et al., 1992; Giovannini et al., 1999; Zuker et al., 2001). Варианты морфогенетических эффектов у различных растений представлены в таблице.

Таблица. Морфогенетические эффекты у различных видов растений
Table. Morphogenetic effects in various plant species

| Вид растения / Plant species | Промотор / Promoter | Эффекты гена <i>rolC</i> / Effects of gene <i>rolC</i> | Источник / Source |
|---|------------------------|--|---|
| Культурный табак <i>Nicotiana tabacum</i> L. | нативный | изменение формы листа, уменьшенные цветки | Schmülling et al., 1988; Scorza et al., 1994; Guivarch et al., 1996 |
| | 35S CaMV | Те же, что с нативным промотором, + мужская стерильность, хлорозы | |
| Картофель <i>Solanum tuberosum</i> L. | 35S CaMV | мужская стерильность, хлорозы, уменьшенный размер клубней | Fladung, 1990; Schmülling et al., 1993 |
| Осина <i>Populus tremula</i> L. | нативный | кустистость, сморщенные листья, поздний переход к покою | Tzfira et al., 1999 |
| | 35S CaMV | | |
| Томат <i>Solanum lycopersicum</i> L. | нативный | кустистость, меньший размер плодов | Bettini et al., 2010 |
| Сальпиглоссис <i>Salpiglossis sinuata</i> Ruiz & Pav. | нативный | кустистость, уменьшенный размер цветков и листьев | Lee et al., 1996 |
| Роза <i>Rosa hybrida</i> cv. <i>Madame</i> | нативный | кустистость, увеличение числа шипов и изменение цвета лепестков | Souq et al., 1996 |
| Садовая гвоздика <i>Dianthus caryophyllus</i> L. | 35S CaMV | кустистость, корнеобразование, увеличенное количество цветоносов | Ovadis et al., 1999; Zuker et al., 2001; Casanova et al., 2004; |
| Маргаритка <i>Osteospermum ecklonis</i> (DC.) Norl. | 35S CaMV | Увеличение количества цветков, листья бледно-зеленые | Giovannini et al., 1999 |
| Белладонна <i>Atropa belladonna</i> L. | 35S CaMV | узкие бледно-зеленые листья, увеличение количества цветков меньшего размера | Kurioka et al., 1992 |
| Хризантема садовая, <i>Chrysanthemum</i> × <i>hortorum</i> , сорт White Shadow | 35S CaMV | узкие бледно-зеленые листья, увеличение количества цветков меньшего размера, изменение формы лепестков | Mitiouchkina, Dolgov, 2000 |
| Петуния <i>Petunia axillaris</i> × <i>P. hybrida</i> | 35S CaMV | кустистость, уменьшенные/увеличенные листья, увеличение количества листьев | Winefield et al., 1999 |
| <i>Pelargonium domesticum</i> (Regals.), cv. Dubonnet | 35S CaMV | уменьшенные листья, увеличение количества цветков | Boase et al., 2004 |
| Понцирус <i>Poncirus trifoliata</i> (L.) Raf. | 35S CaMV | Усиленное корнеобразование | Kaneyoshi, Kobayashi, 1999 |
| Восточная хурма <i>Diospyros kaki</i> Thunb. | 35S CaMV | Усиленное корнеобразование | Koshita et al., 2002 |

Подобные реакции у растений могут возникать вследствие снижения количества ауксина в растительных клетках, либо от понижения чувствительности к ауксину, а также от повышения количества цитокининов (Schmülling et al., 1988; Spena et al., 1989). Была предложена гипотеза о способности *rolC* повышать количество цитокининов путем высвобождения их из различных соединений (Estruch et al., 1991), однако данная гипотеза не нашла подтверждений *in vivo*. У некоторых растений-трансформантов, например, у садовой гвоздики *Dianthus caryophyllus* L., активно регенерируют как побеги, так и корни, то есть проявляется как цитокининовый, так и ауксиновый эффект (Casanova et al., 2003; 2004). Активное корнеобразование у *rolC*-трансформантов также отмечено при использовании в экспериментах кустарника из рода *Poncirus* (Kaneyoshi, Kobayashi, 1999) и хурмы (*Diospyros kaki* Thunb.) (Koshita et al., 2002). Ева Касанова с коллегами отмечают, что способность к формированию побегов и корней не коррелирует с уровнем свободных цитокининов и ауксинов в трансформированных растениях, что позволяет предположить наличие иных регуляторов, на которые оказывает влияние *rolC* (Casanova et al., 2004). Ранее Шмюллинг с соавторами уже попытались объяснить карликовый фенотип *rolC*-трансформантов нарушением баланса не ауксинов и цитокининов, а других классов гормонов (Schmülling et al., 1993). У растений картофеля и культурного табака, несущих конструкцию 35S CaMV-*rolC*, показано повышение количества гиббереллинов GA19, в связи с чем авторы предположили, что *rolC* может блокировать преобразование GA19 в GA20. Также зафиксировано снижение количества GA1 (Nilsson et al., 1993; Schmülling et al., 1993). Степень карликовости побегов коррелирует с понижением количества гибберелловой кислоты, при этом обработка экзогенной GA3 приводит к восстановлению нормальной длины междоузлий, что объясняется влиянием GA на рост клеток растяжением (Fladung, 1990; Schmülling et al., 1993). Снижение количества гиббереллина в растениях с 35S CaMV-*rolC* может быть причиной уменьшения размера клеток листа (Nilsson et al., 1993). Развитие клеток меньшего размера описано также у трансформированной осины в меристеме (Nilsson et al., 1996) и у *N. tabacum* с 35S CaMV-*rolC* в мезофилле листа и в сердцевине стебля (Estruch et al. 1991; Guivarch et al., 1996). Помимо гиббереллинов у трансформантов отмечено пониженное содержание этилена (Martin-Tanguy et al., 1993) и абсцизовой кислоты (Nilsson et al., 1993; Fladung et al., 1997; Bettini et al., 2010), последняя может быть причиной повышенного уровня транспирации таких растений (Fladung, Ballvora, 1992), поскольку абсцизовая кислота регулирует закрытие устьиц. Ген *rolC* влияет не только на количество, но и на чувствительность к гормонам, повышая чувствительность к цитокининам и предшественникам этилена и понижая её к ауксину и абсцизовой кислоте (Schmülling et al., 1993). Таким образом, *rolC* изменяет баланс гормонов,

а также чувствительность растения к гормонам, следствием чего являются множественные морфогенетические реакции. Получение растений, несущих *rolC*, и изучение их морфогенетических параметров является актуальным направлением в современной селекции садовых растений, поскольку позволяет создать новые формы, например, вывести карликовые морфы популярных сортов, изменить форму и цвет листьев, ускорить время цветения. Как уже было сказано, эффекты могут различаться в зависимости от того, под каким промотором работает *rolC*. Так листовые экспланты каланхоэ и *N. tabacum*, трансформированные 35S CaMV-*rolC*, способны к образованию боковых корней, тогда как трансформация геном *rolC* с нативным промотором не приводит к подобному результату (Spena et al., 1987; Schmülling et al., 1988). Различия между промоторами также наблюдаются для древесных форм. У растений гибридной осины (*Populus tremula* × *Populus tremuloides*), трансформированной 35S CaMV-*rolC*, наблюдается типичный фенотип (карликовость, изменение формы листьев), который сохраняется после периода покоя (Nilsson et al., 1996). У растений же осины, трансформированной *rolC* с нативным промотором, фенотипические изменения сохраняются только до первого периода покоя, а двухлетние растения внешне не отличаются от контрольных (Tzfira et al., 1999). Для того, чтобы понять, какие механизмы могут лежать в основе подобных различий, необходимо разобраться в том, как работают промоторы, нативный и промотор вируса мозаики цветной капусты 35S CaMV. В то время, как 35S CaMV является известным, широко используемым промотором, про собственный промотор *rolC* известно гораздо меньше. В следующем разделе обзора собрана информация, посвященная нативному промотору гена *rolC*.

Промотор *rolC*

В отличие от промотора вируса мозаики цветной капусты 35S CaMV, под которым ген экспрессируется конститутивно, то есть постоянно во всех органах и тканях, активность нативного промотора *rolC* различается в тканях и изменяется с возрастом растения. Экспрессия *rolC* орган-специфична, достигает максимальных значений в корнях и уменьшается в ряду корень-стебель-цветок-лист (Schmülling et al., 1988; Sugaya et al., 1989; Guivarch et al., 1996). Внутри цветка *rolC* активнее всего экспрессируется в чашелистиках (Guivarch et al., 1996). С возрастом активность промотора *rolC* понижается в корнях и повышается в надземных частях, так для растений 6-недельного возраста максимальная активность зафиксирована в междоузлиях, а для 6–13-дневных – в корнях (Guivarch et al., 1996). На тканевом уровне для большинства изученных видов растений экспрессия *rolC* показана во флоэме (Matsuki et al., 1989; Sugaya et al., 1989; Nagata et al., 1995;), кроме того, у картофеля она также отмечена в клетках обкладки проводящего

пучка (Graham et al., 1997). В связи с этим было высказано предположение о возможном участии *rolC* в метаболизме или транспорте сахаров, поскольку во флоэме благодаря восходящему току продуктов фотосинтеза содержится много сахарозы. В цис-регуляторной области промотора *rolC* действительно был обнаружен чувствительный к сахарозе участок (-135...-94 от точки инициации транскрипции) (Sugaya, Uchimiya, 1992; Yokoyama et al., 1994). Несмотря на то, что в растении экспрессия *rolC* в большинстве случаев ограничена клетками флоэмы, на примере осины показано, что ген может быть индуцирован в любой клетке, пропитанной сахарозой (Nilsson et al., 1996). Помимо функции сигнальной молекулы, сахароза также может служить потенциальным субстратом для белка *rolC*. Оказывая положительное влияние на деление клеток, сахароза может способствовать закладке корней (Faiss et al., 1996; Nilsson, Olsson, 1997). В эмбриогенезе экспрессия *rolC* была детектирована в культуре клеток моркови в период формирования соматических эмбрионов при переносе на среду без 2,4-Д (2,4-D, Fujii, Uchimiya, 1991). У *N. tabacum* ген *rolC* экспрессируется в тканях зародыша (Sugaya, Uchimiya 1992), что может свидетельствовать о его участии в процессах закладки и формирования будущих органов растения. В процессе развития у трансформированных растений возникают морфологические изменения, которые попытались объяснить повышением уровня свободных цитокининов. Ранее для белкового продукта *rolC*, наработанного в гетерологичной системе, была показана цитокинин-β-глюкозидазная активность, в связи с чем и возникла данная гипотеза (Estruch et al., 1991). Белок *rolC* – продукт гена *rolC* – имеет массу 20,1 кДа (20100 Da, Slightom et al., 1986). Он локализован в цитоплазме, а глюкозид-связанные цитокинины находятся в вакуолях. Было высказано предположение, что белок *rolC* успевает расщепить конъюгаты раньше, чем они секвестрируются в вакуолях (Estruch et al., 1991). Позже с помощью конструкции с тетрациклин-индуцибельным промотором Файсс с коллегами показал, что не все глюкозиды являются потенциальными субстратами для цитокинин-β-глюкозидазы, продукта гена *rolC*. Кроме того, концентрация свободных цитокининов и их конъюгатов в экспериментальных растениях не отличалась от контрольной (Faiss et al., 1996), что опровергает предложенную ранее гипотезу. Файсс, в свою очередь, предположил, что цитокинин-β-глюкозидаза *rolC* косвенно воздействует на развитие растений благодаря участию в метаболизме сахаров (Faiss et al., 1996). Показано, что растения *N. tabacum*, трансформированные *rolC*, способны накапливать крахмал в зрелых тканях листа (Mohajjel-Shoja et al., 2011), а в клубнях трансформированного картофеля повышено содержание глюкозы и крахмала (Fladung, Gieffers, 1993). Таким образом, *rolC* действительно участвует в метаболизме углеводов у растений, что согласуется с локализацией активности промотора в тканях флоэмы. У взрослых растений *N. tabacum* экспрессия *rolC*

по одним данным ограничена протофлоэмой и сопровождающимися клетками (Schmülling et al., 1988; Sugaya et al., 1989; Guivarch et al., 1996), по другим – *rolC* также экспрессируется в корневых кончиках и в железистых клетках на кончиках трихом (Hu et al., 2003). Предполагают, что регуляция экспрессии *rolC* в *N. tabacum* может осуществляться с помощью тех же механизмов, которые контролируют активность трихом-специфичных генов и генов, специфичных для элементов проводящей системы. В пользу данной гипотезы свидетельствует высокий уровень сходства последовательностей промоторов *rolC* и трихом-специфичных генов *GLABROUS1* (*GL1*) и *GLABRA2* (*GL2*), а также наличие в промоторе *rolC* регуляторного элемента (AACG/TG), похожего на регуляторную область промотора гена *myb* у *Hordeum vulgare* (Hu et al., 2003) и С-связанного (C-related) элемента (CCGAC) (Jaglo et al., 2001). Как белки Myb, так и С-связанные элементы участвуют в адаптации растений к различного рода стрессам (Ganesan et al., 2012; Jaglo et al., 2001), в том числе к засухе. Возможно, данные регуляторные последовательности вносят вклад в развитие специфического фенотипа в результате действия *rolC* (Pavlova et al., 2013). Активность промотора *rolC* в концах трихом может быть использована для регуляции биосинтеза вторичных метаболитов, синтезируемых в железистых клетках культурного табака (Gao et al., 1995). Несмотря на то, что механизм регуляции путей биосинтеза посредством *rolC* у растений не установлен, очевидно, что этот ген способен активировать вторичные метаболические процессы. Некоторые вторичные метаболиты обеспечивают защитные свойства растений, повышая их устойчивость к фитопатогенам или делая их менее привлекательными для травоядных животных и насекомых (Pieterse et al., 2012; Naseem, Dandekar, 2012). Таким образом, *rolC* способен повышать защиту растений путем усиления синтеза ряда метаболитов, за счет активации, регулирующих их Myb-факторов и С-связанных элементов. В культуре клеток женьшеня также показана корреляция экспрессии *rolC* с активностью β-1,3-глюканазы, которая принадлежит к семейству белков защиты растений PR-2 (Kiselev et al., 2006).

Заключение

Эффекты *rol*-генов в трансформированных растениях активно изучают с 80-х годов прошлого века, но несмотря на значительный объем накопленных данных, многие вопросы, касающиеся механизмов и особенностей действия *rolC* в растениях, на сегодняшний день остаются без ответов. При этом очевидно, что *rolC* вызывает множественные физиологические и биохимические изменения у трансформированных растений, от изменения высоты побега, формы листа и количества цветков, до активации процессов вторичного метаболизма. Хотя экспрессия *rolC* приводит к множественным эффектам, растения-трансформанты могут различаться по сте-

пени проявления этих эффектов в зависимости от того, под каким промотором работает ген. Изменение формы и размера вегетативных и генеративных органов трансформантов исходно объясняли влиянием *rolC* на соотношение свободных форм фитогормонов, а также на изменение чувствительности растения к гормонам (Schmülling et al., 1993; Spena et al., 1989). Однако отсутствие единой картины в экспериментах не позволяет построить модель взаимодействия *rolC* с гормональной системой растений. Следовательно, можно предположить наличие иных путей влияния *rolC* на ростовые процессы растений. В качестве альтернативной гипотезы рассматривают участие *rolC* в метаболизме сахаров (Nilsson, Olsson, 1997; Mohajjel-Shoja et al., 2011). Способность сахарозы индуцировать *rolC*, как и локализация активности промотора *rolC* в тканях флоэмы, служат в пользу данной гипотезы, однако молекулярные механизмы остаются неизученными. Известно о наличии чувствительного к сахарозе участка в промоторе гена *rolC*, а также о сходстве участков его промотора с различными регуляторными областями иных генов, что может объяснить множественные эффекты гена *rolC*. Возможно, дальнейшие исследования в данном направлении могли бы прояснить сигнальные пути, в которых *rolC* задействован в растении. Использование гена *rolC* для трансформации различных видов растений позволит получить новые сорта декоративных растений, низкорослых, «пышных» и обильно цветущих за счет ветвистых побегов, с измененной формой и цветом листьев (Casanova et al., 2005). Способность *rolC* повышать устойчивость к фитопатогенам и иным факторам стресса представляет особый интерес для сферы сельского хозяйства, а влияние на вторичный метаболизм – для фарминдустрии и косметологии. Несмотря на то, что молекулярные механизмы действия *rolC* в растениях активно изучают (Bulgakov et al., 2013; Mauro et al., 2017), на сегодняшний день они не установлены. Так же, возможно, остаются еще не выявленными функции гена *rolC* для растений. В геномах природно-трансгенных растений *rolC* часто остается интактным и экспрессируется, что наводит на мысль о возможной важной роли данного гена для растений (Matveeva, Sokornova, 2016; Chen, Otten, 2017; Otten, 2018;). Дальнейшие исследования функций гена *rolC*, его структуры и механизмов действия помогут приблизиться к пониманию роли, которую данный ген играет в растениях, а также станут ценным вкладом в селекцию новых сортов декоративных, сельскохозяйственных и лекарственных растений.

References/Литература

- Bell R.L., Scorza R., Srinivasan C., Webb K. Transformation of Beurre Bosc Pear with the *rolC* gene. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 1999;124(6):570-574.
- Bettini P., Baraldi R., Rapparini F., Melani L., Mauro M. L., Bindi D., Buiatti M. The insertion of the *Agrobacterium rhizogenes rolC* gene in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) affects plant architecture and endogenous auxin and abscisic acid levels. *Scientia Horticulturae*. 2010;123(3):323-328. DOI: 10.1016/j.scienta.2009.09.013
- Boase M.R., Winefield C.S., Lill T.A., Bendall M.J. Transgenic regal pelargoniums that express the *rolC* gene from *Agrobacterium rhizogenes* exhibit a dwarf floral and vegetative phenotype. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*. 2004;40(1):46-50. DOI: 10.1079/IVP2003476
- Bonhomme V., Laurain Mattar D., Fliniaux M.A. Effects of the *rolC* gene on hairy root: induction development and tropane alkaloid production by *Atropa belladonna*. *Journal of Natural Products*. 2000;63(9):1249-1252. DOI: 10.1021/np990614l
- Bulgakov V.P., Khodakovskaya M.V., Labetskaya N.V., Chernoded G.K., Zhuravlev Y.N. The impact of plant *rolC* oncogene on ginsenoside production by ginseng hairy root cultures. *Phytochemistry*. 1998;49:1929-1934. DOI: 10.1016/S0031-9422(98)00351-3
- Bulgakov V.P., Tchernoded G.K., Mischenko N.P., Khodakovskaya M.V., Glazunov V.P., Zvereva E.V., Fedoreyev S.A., Zhuravlev Y.N. Effects of salicylic acid, methyl jasmonate, etephone and cantharidin on anthraquinone production by *Rubia cordifolia* callus cultures transformed with *rolB* and *rolC* genes. *Journal of Biotechnology*. 2002;97(3):213-221. DOI: 10.1016/S0168-1656(02)00067-6
- Bulgakov V.P., Tchernoded G.K., Mischenko N.P., Shkryl Y.N., Glazunov V.P., Fedoreyev S.A., Zhuravleva Y.N. Effects of Ca (2+) channel blockers and protein kinase/phosphatase inhibitors on growth and anthraquinone production in *Rubia cordifolia* callus cultures transformed by the *rolB* and *rolC* genes. *Planta*. 2003;217:349-355. DOI: 10.1007/s00425-003-0996-5
- Bulgakov V.P., Tchernoded G.K., Mischenko N.P., Shkryl Y.N., Fedoreyev S.A., Zhuravlev Y.N. The *rolB* and *rolC* genes activate synthesis of anthraquinones in *Rubia cordifolia* cells by mechanism independent of octadecanoid signaling pathway. *Plant Science*. 2004;166:1069-1075. DOI: 10.1016/j.plantsci.2003.12.027
- Bulgakov V.P., Aminin D.L., Shkryl Y.N., Gorpenchenko T.Y., Veremeichik G.N., Dmitrenok P.S., Zhuravlev Y.N. Suppression of reactive oxygen species and enhanced stress tolerance in *Rubia cordifolia* cells expressing the *rolC* oncogene. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2008;21(12):1561-1570. DOI: 10.1094/mpmi-21-12-1561
- Bulgakov V.P., Shkryl Y.N., Veremeichik G.N., Gorpenchenko T.Y., Vereshchagina Y.V. Recent Advances in the Understanding of *Agrobacterium rhizogenes*-Derived Genes and Their Effects on Stress Resistance and Plant Metabolism. In: P. Doran (ed). *Biotechnology of Hairy Root Systems. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Vol. 134. Berlin, Heidelberg: Springer; 2013. p.1-22. DOI: 10.1007/10_2013_179
- Bulgakov V.P., Veremeichik G.N., Grigorchuk V.P., Rybin V.G., Shkryl Y.N. The *rolB* gene activates secondary metabolism in Arabidopsis calli via selective activation of genes encoding MYB and bHLH transcription factors. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2016;102:70-79. DOI: 10.1016/j.plaphy.2016.02.015
- Cardarelli M., Mariotti D., Pomponi M., Spano L., Capone I., Costantino P. *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA genes capable of inducing hairy root phenotype. *Molecular and General Genetics*. 1987;209:475-480. DOI: 10.1007/bf00331152
- Casanova E., Zuker A., Trillas M.I., Moysset L., Vainstein A. The *rolC* gene in carnation exhibits cytokinin- and auxin-like activities. *Scientia Horticulturae*. 2003;97(3-4):321-331. DOI: 10.1016/S0304-4238(02)00155-3
- Casanova E., Valdés A.E., Zuker A., Fernández B., Vainstein A., Trillas M.I., Moysset L. *rolC*-transgenic carnation plants: adventitious organogenesis and levels of endogenous auxin and cytokinins. *Plant Science*. 2004;167(3):551-560. DOI: 10.1016/j.plantsci.2004.04.029
- Casanova E., Trillas M.I., Moysset L., Vainstein A. Influence of *rol* genes in floriculture. *Biotechnology Advances*. 2005;23(1):3-39. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2004.06.002
- Chen K., Dorlhac de Borne F., Szegedi E., Otten L. Deep sequencing of the ancestral tobacco species *Nicotiana tomentosiformis* reveals multiple T-DNA inserts and a complex evolutionary history of natural transformation in the genus *Nicotiana*. *The Plant Journal*. 2014;80(4):669-682. DOI: 10.1111/tpj.12661

- Chen K., Otten L. Natural *Agrobacterium* transformants: recent results and some theoretical considerations. *Frontiers in Plant Science*. 2017;8:1600. DOI: 10.3389/fpls.2017.01600
- Dilshad E., Cusido R.M., Estrada K.R., Bonfill M., Mirza B. Genetic transformation of *Artemisia carvifolia* Buch with *rol* genes enhances artemisinin accumulation. *PLoS One*. 2015;10(10):e0140266. DOI: 10.1371/journal.pone.0140266
- Dubrovina A.S., Manyakhin A.Y., Zhuravlev Y.N., Kiselev K. Resveratrol content and expression of phenylalanine ammonia-lyase and stilbene synthase genes in *rolC* transgenic cell cultures of *Vitis amurensis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2010;88:727-736. DOI: 10.1007/s00253-010-2792-z
- Estruch J.J., Chriqui D., Grossmann K., Schell J., Spena A. The plant oncogene *rolC* is responsible for the release of cytokinins from glucoside conjugates. *The EMBO Journal*. 1991;10(10):2889-2895.
- Faiss M., Strnad M., Redig P., Doležal K., Hanuš J., Van Onckelen H., Schmülling T. Chemically induced expression of the *rolC*-encoded β -glucosidase in transgenic tobacco plants and analysis of cytokinin metabolism: *rolC* does not hydrolyze endogenous cytokinin glucosides in planta. *The Plant Journal*. 1996;10(1):33-46. DOI: 10.1046/J.1365-313X.1996.10010033.X
- Fladung M. Transformation of diploid and tetraploid potato clones with the *rolC* gene of *Agrobacterium rhizogenes* and characterization of transgenic plants. *Plant Breeding*. 1990;104(4):295-304. DOI: 10.1111/j.1439-0523.1990.tb00439.x
- Fladung M., Ballvora A. Further characterization of *rolC* transgenic tetraploid potato clones, and influence of daylength and level of *rolC* expression on yield parameters. *Plant Breeding*. 1992;109(1):18-27. DOI: 10.1111/j.1439-0523.1992.tb00145.x
- Fladung M., Grossmann K., Ahuja M.R. Alterations in hormonal and developmental characteristics in transgenic *Populus* conditioned by the *rolC* gene from *Agrobacterium rhizogenes*. *Journal of Plant Physiology*. 1997;150:420-427. DOI: 10.1016/S0176-1617(97)80092-2
- Fladung M., Gieffers W. Resistance reactions of leaves and tubers of *rolC* transgenic tetraploid potato to bacterial and fungal pathogens. Correlation with sugar, starch and chlorophyll content. *Physiology and Molecular Plant Pathology*. 1993;42:123-132. DOI: 10.1006/pmpp.1993.1010
- Fujii N., Uchimiya H. Conditions favorable for the somatic embryogenesis in carrot cell culture enhance expression of the *rolC* promoter-GUS fusion gene. *Plant Physiology*. 1991;95(1):238-241. DOI: 10.1104/pp.95.1.238
- Ganesan G., Sankaramasubramanian H.M., Harikrishnan M., Ashwin G., Parida A. A MYB transcription factor from the grey mangrove is induced by stress and confers NaCl tolerance in tobacco. *Journal of Experimental Botany*. 2012;63(12):4549-4561. DOI: 10.1093/jxb/ERS135
- Gao Z., Liu G., Fu Y. A study on the glandular trichomes and their secretory cell in the leaves of aromatic tobacco plants. *Acta Agriculturae Universitatis Henanensis*. 1995;30:329-346.
- Giovannini A., Zottini M., Morreale G., Spena A., Allavena A. Ornamental traits modification by *rol* genes in *Osteospermum ecklonis* transformed with *Agrobacterium tumefaciens*. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*. 1999;35(1):70-75. DOI: 10.1007/s11627-999-0012-2
- Graham M.W., Craig S., Waterhouse P.M. Expression patterns of vascular-specific promoters *RoIc* and *Sh* in transgenic potatoes and their use in engineering PLRV-resistant plants. *Plant Molecular Biology*. 1997;33:729-735. DOI: 10.1023/A:1005726918110
- Guivarch A., Spena A., Noin M., Besnard C., Chriqui D. The pleiotropic effects induced by the *rolC* gene in transgenic plants are caused by expression restricted to protophloem and companion cells. *Transgenic Research*. 1996;5(1):3-11. DOI: 10.1007/BF01979917
- Hu Y., Chen B., Ni T., Li N., Lin Z. Promoter of the *rolC* gene of *Agrobacterium rhizogenes* can be strongly regulated in glandular cell of transgenic tobacco. *Molecular Biotechnology*. 2003;24(2):121-125. DOI: 10.1385/MB:24:2:121
- Intrieri M.C., Buiatti M. The horizontal transfer of *Agrobacterium rhizogenes* genes and the evolution of the genus *Nicotiana*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2001;20(1):100-110. DOI: 10.1006/mpev.2001.0927
- Inyushkina Y.V., Kiselev K.V., Bulgakov V.P., Zhuravlev Y.N. Specific genes of cytochrome P450 monooxygenases are implicated in biosynthesis of caffeic acid metabolites in *rolC*-transgenic culture of *Eritrichium sericeum*. *Biochemistry (Moscow)*. 2009;74:917-924. DOI: 10.1134/S0006297909080148
- Ismail H., Dilshad E., Waheed M.T., Sajid M., Kayani W.K., Mirza B. Transformation of *Lactuca sativa* L. with *rolC* gene results in increased antioxidant potential and enhanced analgesic, anti-inflammatory and antidepressant activities *in vivo*. *3 Biotech*. 2016;6(2):215. DOI: 10.1007/s13205-016-0533-4
- Jaglo K.R., Kleff S., Amundsen K.L., Zhang X., Haake V., Zhang J.Z., Deits T., Thomashow M.F. Components of the Arabidopsis C-repeat/dehydration-responsive element binding factor cold-response pathway are conserved in *Brassica napus* and other plant species. *Plant Physiology*. 2001;127:910-917. DOI: 10.1104/pp.010548
- Kaneyoshi J., Kobayashi S. Characteristics of transgenic trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* Raf.) possessing the *rolC* gene of *Agrobacterium rhizogenes* Ri plasmid. *Journal of Japanese Society of Horticultural Science*. 1999;68:734-738. DOI: 10.2503/jjshs.68.734
- Kiselev K.V., Kusaykin M.I., Dubrovina A.S., Bezverbnny D.A., Zvyagintseva T.N., Bulgakov V.P. The *rolC* gene induces expression of a pathogenesis-related β -1, 3-glucanase in transformed ginseng cells. *Phytochemistry*. 2006;67(20):2225-2231. DOI: 10.1016/j.phytochem.2006.07.019
- Koshita Y., Nakamura Y., Kobayashi S., Morinaga K., Introduction of the *rolC* gene into the genome of the Japanese persimmon causes dwarfism. *Journal of Japanese Society of Horticultural Science*. 2002;71:529-531. DOI: 10.2503/jjshs.71.529
- Kyndt T., Quispe D., Zhai H., Jarret R., Ghislain M., Liu Q., Gheysen G., Kreuzer J.F. The genome of cultivated sweet potato contains *Agrobacterium* T-DNAs with expressed genes: an example of a naturally transgenic food crop. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015;112(18):5844-5849. DOI: 10.1073/pnas.1419685112
- Kurioka Y., Suzuki Y., Kamada H., Harada H. Promotion of flowering and morphological alterations in *Atropa belladonna* transformed with a CaMV 35S-*rolC* chimeric gene of the Ri plasmid. *Plant Cell Reports*. 1992;12(1):1-6. DOI: 10.1007/BF00232412
- Landi L., Capocasa F., Costantini E., Mezzetti B. *ROLc* strawberry plant adaptability, productivity, and tolerance to soil-borne disease and mycorrhizal interactions. *Transgenic Research*. 2009;18(6):933-942. DOI: 10.1007/s1248-009-9279-7
- Lee C., Wang L., Ke S., Qin M., Cheng Z-M. Expression of the *rolC* gene in transgenic plants of *Salpiglossis sinuata* L. *Horticultural Science*. 1996;31:571. DOI: 10.21273/HORTSCI.31.4.571e
- Martin-Tanguy J., Corbinau F., Burtin D., Ben-Hayyim G., Tepfer D. Genetic transformation with a derivative of *rolC* from *Agrobacterium rhizogenes* and treatment with α -aminoisobutyric acid produce similar phenotypes and reduce ethylene production and the accumulation of water-insoluble polyamine-hydroxycinnamic acid conjugates in tobacco flowers. *Plant Science*. 1993;93(1-2):63-76. DOI: 10.1016/0168-9452(93)90035-X
- Matsuki R., Onodera H., Yamauchi T., Uchimiya H. Tissue-specific expression of the *rolC* promoter of the Ri plasmid in transgenic rice plants. *Molecular and General Genetics*. 1989;220:12-16. DOI: 10.1007/BF00260849
- Matveeva T.V., Bogomaz D.I., Pavlova O.A., Nester E.W., Lutova L.A. Horizontal gene transfer from genus *Agrobacterium* to the plant *Linaris* in nature. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2012;25(12):1542-1551. DOI: 10.1094/MPMI-07-12-0169-R
- Matveeva T.V., Sokornova S.V. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated Transformation of Plants for Improvement of Yields of Secondary Metabolites. In: A. Pavlov, T. Bley (eds). *Bioprocessing of Plant In Vitro Systems. Reference Series in Phytochemistry*. Cham (Switzerland): Springer; 2016. p.161-202. DOI: 10.1007/978-3-319-32004-5_18-1
- Matveeva T.V., Otten L. Widespread occurrence of natural genetic transformation of plants by *Agrobacterium*. *Plant Molecular Biology*. 2019;101(4):415-437. DOI: 10.1007/s11103-019-00913-y
- Mauro M.L., Costantino P., Bettini P.P. The never-ending story of *rol* genes: a century after. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2017;131(2):201-212. DOI: 10.1007/s11240-017-1277-5
- Michael T., Spena A. The plant oncogenes *rolA*, *B*, and *C* from *Agrobacterium rhizogenes*. In: K.M.A. Gartland, M.R. Davey (eds) *Agrobacterium* Protocols. *Methods in Molecular Biology*.

- 1995;44:207-222. DOI: 10.1385/0-89603-302-3:207
- Mitiouchkina T.Y., Dolgov S.V. Modification of chrysanthemum plant and flower architecture by *rolC* gene from *Agrobacterium rhizogenes* introduction. *Acta Horticulturae*. 2000;508:163-172. DOI: 10.17660/ActaHortic.2000.508.21
- Mohajjel-Shoja H., Clément B., Perot J., Alioua M., Otten L. Biological activity of the *Agrobacterium rhizogenes*-derived *rolC* gene of *Nicotiana tabacum* and its functional relation to other *plast* genes. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2011;24(1):44-53. DOI: 10.1094/MPMI-06-10-0139
- Nagata N., Kosono S., Sekine M., Shimmyo A., Syono K. The regulatory functions of the *rolB* and *rolC* genes of *Agrobacterium rhizogenes* are conserved in the homologous genes (*Ngrol*) of *Nicotiana glauca* in tobacco genetic tumors. *Plant and Cell Physiology*. 1995;36(6):1003-1012. DOI: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a078842
- Naseem M., Dandekar T. The role of auxin-cytokinin antagonism in plant-pathogen interactions. *PLoS Pathogene*. 2012;11:e1003026. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003026
- Nilsson O., Moritz T., Imbault N., Sandberg G., Olsson O. Hormonal characterization of transgenic tobacco plants expressing the *rolC* gene of *Agrobacterium rhizogenes* T₁-DNA. *Plant Physiology*. 1993;102(2):363-371.
- Nilsson O., Little C.H.A., Sandberg G., Olsson O. Expression of two heterologous promoters, *Agrobacterium rhizogenes rolC* and cauliflower mosaic virus 35S, in the stem of transgenic hybrid aspen plants during the annual cycle of growth and dormancy. *Plant Molecular Biology*. 1996;31(4):887-895. DOI: 10.1007/bf00019475
- Nilsson O., Olsson O. Getting to the root: The role of the *Agrobacterium rhizogenes rol* genes in the formation of hairy roots. *Physiologia Plantarum*. 1997;100:463-473. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1997.tb03050.x
- Oono Y., Kanaya K., Uchimiya H. Early flowering in transgenic tobacco plants possessing the *rolC* gene of *Agrobacterium rhizogenes* Ri plasmid. *The Japanese Journal of Genetics*. 1990;65(1):7-16. DOI: 10.1266/jjg.65.7
- Otten L. The *Agrobacterium* phenotypic plasticity (*Plast*) genes. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 2018;418:375-419. DOI: 10.1007/82_2018_93
- Ovadis M., Zuker A., Tzfira T., Ahroni A., Shklarman E., Scovel G., Itzhaki H., Ben-Meir Vainstein A. Generation of transgenic carnation plants with novel characteristics by combining micro-projectile bombardment with *Agrobacterium tumefaciens* transformation. *Plant Biotechnology and In Vitro Biology in the 21st Century*. 1999;36:189-192. DOI: 10.1007/978-94-011-4661-6_44
- Palazón J., Cusidó R.M., Roig C., Piñol M.T. Effect of *rol* genes from *Agrobacterium rhizogenes* TL-DNA on nicotine production in tobacco root cultures. *Plant Physiology and Biochemistry*. 1997;35:155-62.
- Palazón J., Cusidó R.M., Roig C., Piñol M.T. Expression of the *rolC* gene and nicotine production in transgenic roots and their regenerated plants. *Plant Cell Reports*. 1998a;17:384-390. DOI: 10.1007/s002990050411
- Palazón J., Cusidó R.M., Gonzalo J., Bonfill M., Morales S., Piñol M.T. Relation between the amount of *rolC* gene product and indole alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus* transformed root cultures. *Journal of Plant Physiology*. 1998b;153:712-718. DOI: 10.1016/S0176-1617(98)80225-3
- Pavlova O.A., Matveyeva T.V., Lutova L.A. *Rol*-GENES of *Agrobacterium rhizogenes*. *Ecological genetics*. 2013;11(1):59-68. [In Russian] (Павлова О.А., Матвеева Т.В., Лутова Л.А. *Rol*-гены *Agrobacterium rhizogenes*. *Экологическая генетика*. 2013;11(1):59-68). doi: 10.17816/ecogen1159-68
- Pieterse C.M.J., Van der Does D., Zamioudis C., Leon-Reyes A., Van Wees S.C.M. Hormonal modulation of plant immunity. *Annual Review of Cell and Development Biology*. 2012;28:489-521. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-092910-154055
- Riker A.J., Banfield W.M., Wright W.H., Keitt G.W., Sagen H.E. Studies on infectious hairy root of nursery apple trees. *Journal of Agricultural Research*. 1930;41(7):507-540.
- Sawada H., Ieki H., Oyaizu H., Matsumoto S. Proposal for rejection of *Agrobacterium tumefaciens* and revised descriptions for the genus *Agrobacterium* and for *Agrobacterium radiobacter* and *Agrobacterium rhizogenes*. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1993;43(4):694-702.
- Schmülling T., Schell J., Spena A. Single genes from *Agrobacterium rhizogenes* influence plant development. *The EMBO Journal*. 1988;7:2621-2629. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1988.tb03114.x
- Schmülling T., Fladung M., Grossmann K., Schell J. Hormonal content and sensitivity of transgenic tobacco and potato plants expressing single *rol* genes of *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA. *The Plant Journal*. 1993;3:371-382. DOI: 10.1046/j.1365-313X.1993.t01-20-00999.x
- Shkryl Y.N., Veremeichik G.N., Bulgakov V.P., Tchernoded G.K., Mischenko N.P., Fedoreyev S.A., Zhuravlev Y.N. Individual and combined effects of the *rolA*, *B* and *C* genes on anthraquinone production in *Rubia cordifolia* transformed calli. *Biotechnology and Bioengineering*. 2008;100:118-125. DOI: 10.1002/bit.21277
- Shkryl Y.N., Veremeichik G.N., Bulgakov V.P., Gorpechenko T.Y., Aminin D.L., Zhuravlev Y.N. Decreased ROS level and activation of antioxidant gene expression in *Agrobacterium rhizogenes* pRiA4-transformed calli of *Rubia cordifolia*. *Planta*. 2010;232:1023-1032. DOI: 10.1007/s00425-010-1237-3
- Scorza R., Zimmerman T.W., Cordts J.M., Footen K.J., Ravelonandro M. Horticultural characteristics of transgenic tobacco expressing the *rolC* gene from *Agrobacterium rhizogenes*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 1994;119(5):1091-1098. DOI: 10.21273/JASHS.119.5.1091
- Slightom J., Durand-Tardif M., Jouanin L., Tepfer D. Nucleotide sequence analysis of TL-DNA of *Agrobacterium rhizogenes* agropine type plasmid. Identification of open reading frames. *Journal of Biological Chemistry*. 1986;261:108-121. DOI: 10.1016/S0021-9258(17)42439-2
- Souq F., Coutos-Thevenot P., Yean H., Delbard G., Maziere Y., Barbe J.P., Boulay M. Genetic transformation of roses, 2 examples: one on morphogenesis, the other on anthocyanin biosynthetic pathway. Second International Symposium on Roses. *Acta Horticulturae*. 1996;424:381-388. 10.17660/ActaHortic.1996.424.73
- Spena A., Schmülling T., Koncz C., Schell J. Independent and synergistic activity of *rolA*, *B* and *C* loci in stimulating abnormal growth in plants. *The EMBO Journal*. 1987;6:3891-3899. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1987.tb02729.x
- Spena A., Aalen R.B., Schulze S.C. Cell-autonomous behavior of the *rolC* gene of *Agrobacterium rhizogenes* during leaf development: a visual assay for transposon excision in transgenic plants. *The Plant Cell*. 1989;1(12):1157-1164. DOI: 10.105/tpc.1.12.1157
- Sugaya S., Hayakawa K., Handa T., Uchimiya H. Cell-specific expression of the *rolC* gene of the T₁-DNA of Ri plasmid in transgenic tobacco plants. *Plant and Cell Physiology*. 1989;30(5):649-653. DOI: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a077789
- Sugaya S., Uchimiya H. Deletion analysis of the 5'-upstream region of the *Agrobacterium rhizogenes* Ri plasmid *rolC* gene required for tissue-specific expression. *Plant Physiology*. 1992;99(2):464-467. DOI: 10.1104/pp.99.2.464
- Tzfira T., Vainstein A., Altman A. *rol*-Gene expression in transgenic aspen (*Populus tremula*) plants results in accelerated growth and improved stem production index. *Trees*. 1999;14:49-54. DOI: 10.1007/PL00009753
- White F.F., Garfinkel D.J., Huffman G.A., Gordon M.P., Nester E.W. Sequence homologous to *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA in the genome of uninfected plants. *Nature*. 1983;301:348-350. doi: 10.1038/301348a0
- Winefield C., Lewis D., Arathoon S., Deroles D. Alteration of petunia plant form through the introduction of the *rolC* gene from *Agrobacterium rhizogenes*. *Molecular Breeding*. 1999;5:543-551. DOI: 10.1023/A:1009638401275
- Yokoyama R., Hirose T., Fujii N., Aspuria E.T., Kato A., Uchimiya H. The *rolC* promoter of *Agrobacterium rhizogenes* Ri plasmid is activated by sucrose in transgenic tobacco plants. *Molecular and General Genetics*. 1994;244:15-22. DOI: 10.1007/BF00280182
- Young J.M., Kuykendall L.D., Martinez-Romero E., Kerr A., Sawada H. A revision of *Rhizobium* Frank 1889, with an emended description of the genus, and the inclusion of all species of *Agrobacterium* Conn 1942 and *Allorhizobium undicola* de Lajudie et al. 1998 as new combinations: *Rhizobium radiobacter*, *R. rhizogenes*, *R. rubi*, *R. undicola*, and *R. vitis*. *International Journal of Systematics and Evolutionary Microbiology*. 2001;51(1):89-103. doi:10.1099/00207713-51-1-89.
- Zuker A., Tzfira T., Scovel G., Ovadis M., Shklarman E., Itzhaki H.,

Vainstein A. *RolC*-transgenic carnation with improved horticultural traits: quantitative and qualitative analyses of greenhouse-grown plants. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 2001;126(1):13-18. DOI: 10.21273/JASHS.126.1.13

«Биотехнология и селекция растений» - это периодический научный журнал, на страницах которого публикуются оригинальные результаты исследований, обзорные статьи, протоколы и методы в области прикладной биотехнологии культурных растений; работы по традиционной селекции продовольственных, кормовых, технических и других культур в сочетании с технологиями *in vitro*, методами геномной и маркер-ориентированной селекции, геномного редактирования, отдаленной гибридизации, клеточной и хромосомной инженерии, а также публикуются краткие сообщения о результатах работы ведущих биотехнологических и селекционных конференций и конгрессов. Журнал выходит четыре раза в год. Языки публикации: русский, английский. Публикации в журнале бесплатные.

Биотехнология и селекция растений

Расширенный поиск



«Биотехнология и селекция растений» - это периодический научный журнал, на страницах которого публикуются оригинальные результаты исследований, обзорные статьи, протоколы и методы в области прикладной биотехнологии культурных растений; работы по традиционной селекции продовольственных, кормовых, технических и других культур в сочетании с технологиями *in vitro*, методами геномной и маркер-ориентированной селекции, геномного редактирования, отдаленной гибридизации, клеточной и хромосомной инженерии, а также публикуются краткие сообщения о результатах работы ведущих биотехнологических и селекционных конференций и конгрессов. Журнал выходит четыре раза в год. Языки публикации: русский, английский. Публикации в журнале бесплатные.

Регистрационное свидетельство ПИ № ФС77-74475 выдано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций 30 ноября 2018 г.

Скрыть

Отправить статью

Правила для авторов

Редакционная коллегия

Редакционный совет

Рецензирование

Этика публикаций

ТЕКУЩИЙ ВЫПУСК

Том 3, № 4 (2020) Скачать выпуск PDF

ОТ РЕДАКЦИИ

[Вступительная статья](#)

Е. К. Хлесткина, Т. А. Гавриленко

[PDF \(RUS\)](#)

4-4 15

МЕТОДИЧЕСКИЕ СТАТЬИ (МЕТОДОЛОГИЯ, МЕТОДЫ, ПРОТОКОЛЫ)

[Номенклатурные стандарты и генетические паспорта сортов картофеля селекции Всероссийского научно-исследовательского института картофеля им. А.Г. Лорха](#)

Д. А. Рыбаков, О. Ю. Антонова, И. Г. Чухина, Н. А. Фомина, Н. С. Клименко, В. В. Желтова, А. А. Мелешин, Е. З. Кочеева, Е. В. Овзс, Х. Х. Апшев, Е. А. Симаков, Т. А. Гавриленко

[PDF \(RUS\)](#)

Биотехнология и селекция растений
Biotechnologia i selekcja roślin

ISSN 2658-6266 (Print)
ISSN 2658-6258 (Online)
Войти
ENG | РУС

ГЛАВНАЯ
О НАС
ТЕКУЩИЙ ВЫПУСК
АРХИВЫ
ОБЪЯВЛЕНИЯ
ПРИНЯТО В ПЕЧАТЬ

[Номенклатурные стандарты, ваучерные образцы и генетические паспорта сортов картофеля, выведенных в селекционных центрах Сибири и Урала](#)

Н. А. Фомина, О. Ю. Антонова, И. Г. Чухина, Д. А. Рыбаков, А. Д. Сафонова, А. А. Мелешин, Т. А. Гавриленко

[PDF \(RUS\)](#)

53-76 101

[Аннотация](#)

ПОПУЛЯРНЫЕ СТАТЬИ

Характеристика редиплоидных линий кукурузы селекции ВИР по комбинационной способности и реакции на ЦМС

Том 2, № 4 (2019)

Кок-сагыз (*Taraxacum kok-saghyz* Rodin): методы выделения каучука и перспективы использования биотехнологических подходов

Том 2, № 2 (2019)

Комплексный подход в создании устойчивых к парше форм яблони: фитопатологическое тестирование и маркер-опосредованный отбор

Том 1, № 1 (2018)






















<https://biosel.elpub.ru>

Plant Biotechnology and Breeding is a scientific periodical publishing on its pages original research results, review articles, protocols and methods in the field of applied crop biotechnology; works on conventional breeding of food, forage, industrial and other crops combined with *in vitro* technologies and methods of genomic and marker-oriented breeding, genome editing, distant hybridization, cell and chromosome engineering, as well as brief communications on the results of the work of leading biotechnological and plant breeding conferences and congresses. The journal is published four times a year. The languages of publications: Russian and English. The publications in the journal are free of charge.

Plant Biotechnology and Breeding

Advanced search

Plant Biotechnology and Breeding is a scientific periodical publishing on its pages original research results, review articles, protocols and methods in the field of applied crop biotechnology; works on conventional breeding of food, forage, industrial and other crops combined with *in vitro* technologies and methods of genomic and marker-oriented breeding, genome editing, distant hybridization, cell and chromosome engineering, as well as brief communications on the results of the work of leading biotechnological and plant breeding conferences and congresses. The journal is published four times a year. The languages of publications: Russian and English. The publications in the journal are free of charge.

Hide

CURRENT ISSUE

Vol 3, No 4 (2020) [View or download the full issue](#) [PDF \(RUSSIAN\)](#)

FROM THE EDITORIAL BOARD

Introductory Article

E. K. Khlestkina, T. A. Gavrilenko

[PDF \(RUS\)](#)

4-4 15

METHODOLOGICAL ARTICLES (METHODOLOGY, METHODS, PROTOCOLS)

Nomenclatural standards and genetic passports of potato cultivars bred in the A.G. Lorkh All-Russian Research Institute of Potato Farming

D. A. Rybakov, O. Yu. Antonova, I. G. Chukhina, N. A. Fomina, N. S. Klimenko, V. V. Zheltova, A. A. Meleshin, E. Z. Kochieva, E. V. Oves, Kh. Kh. Apshev, E. A. Shtakov, T. A. Gavrilenko

[PDF \(RUS\)](#)

5-52 164

[Abstract](#)

POPULAR ARTICLES

Combining ability and response to CMS in reverse diplotid maize lines developed at VIR

Vol 2, No 4 (2019)

Russian dandelion (*Taraxacum kok-saghyz* Kadin): rubber extraction methods and prospects for biotechnological methods application

Vol 2, No 2 (2019)

An integrated approach to creating scab-resistant apple: phytopathological testing and marker-assisted selection

Vol 1, No 1 (2018)

Cryoconservation methods for vegetatively propagated crops

Vol 1, No 1 (2018)

Plant Biotechnology and Breeding
Биотехнология и селекция растений

ISSN 2658-6266 (Print)
ISSN 2658-6258 (Online)

User ENG | РУС

HOME | **ABOUT** | **CURRENT** | **ARCHIVES** | **ANNOUNCEMENTS** | **ONLINE FIRST**

[PDF \(RUS\)](#)

53-76 101

[Abstract](#)

SSR analysis of modern Russian potato varieties using DNA samples of nomenclatural standards

O. Yu. Antonova, N. S. Klimenko, D. A. Rybakov, N. A. Fomina, V. V. Zheltova, L. Yu. Novikova, T. A. Gavrilenko

[PDF \(RUS\)](#)

77-96 113

<https://biosel.elpub.ru>

Научный рецензируемый журнал

БИОТЕХНОЛОГИЯ И СЕЛЕКЦИЯ РАСТЕНИЙ

Научный редактор: д.б.н. Михайлова Е. И.

Переводчик: Шувалов С. В.

Корректор: Шувалов С. В.

Компьютерная верстка: Чухин Г. К.

Подписано в печать 26.03.2021 Формат бумаги 70×100^{1/8}
Бумага офсетная. Печать офсетная
Печ. л. 6. Тираж 30 экз. Зак. 2603

Сектор редакционно-издательской деятельности ВИР
190000, Санкт-Петербург, Большая Морская ул., 42, 44

ООО «Р – КОПИ»
Санкт-Петербург, пер. Гривцова, 6Б

БИОТЕХНОЛОГИЯ
И СЕЛЕКЦИЯ
РАСТЕНИЙ

4(1), 2021