

БИОТЕХНОЛОГИЯ И СЕЛЕКЦИЯ РАСТЕНИЙ

4(2), 2021

а



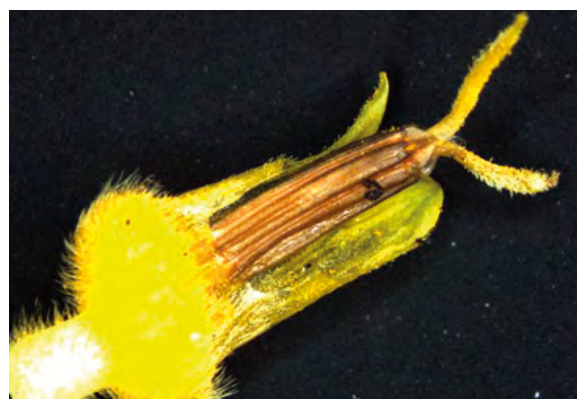
б



в



г



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(2)

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: 10.30901/2658-6266-2021-2
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(2)

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:

Соцветия и фрагменты трубчатых цветков с пыльником фертильного (а, б)
и стерильного (в, г) растений подсолнечника (см. статью – И.Н. Анисимова и др., 2021).

On the Cover:

Inflorescences and fragments of tubular flowers with the anther of fertile (a, b) and sterile (v, r) sunflower plants
(see the article by I.N. Anisimova et al., 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. Турусбеков – 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

Семенова Е.В., Косарева И.А.

ДИАГНОСТИКА
ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ ОБРАЗЦОВ
ГОРОХА (*Pisum sativum* L.)
ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ВИР.

МЕТОДЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В СЕМЕНОВОДСТВЕ И СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ 15

Гультяева Е.И., Шайдаюк Е.Л.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ
УСТОЙЧИВОСТИ К БУРОЙ
РЖАВЧИНЕ У НОВЫХ
РОССИЙСКИХ СОРТОВ МЯГКОЙ
ПШЕНИЦЫ.

*Анисимова И.Н., Карабицина Ю.И.,
Алпатьева Н.В., Кузнецова Е.Б.,
Титов Н.В., Лютко А.Ю., Гаврилова В.А.* 28

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ
МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНА
Rf1 ПОДСОЛНЕЧНИКА

*Радченко Е.Е., Алпатьева Н.В.,
Карабицина Ю.И., Рязанова М.К.,
Кузнецова Е.Б., Романова О.И.,
Анисимова И.Н.* 38

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ
CAPS-МАРКЕРА,
АССОЦИИРОВАННОГО
С ГЕНОМ *Rf2* У СОРГО
(*Sorghum bicolor* (L.) Moench).

CONTENTS

FROM THE EDITOR IN CHIEF 4

Khlestkina E. K.

INTRODUCTORY ARTICLE

DEVELOPMENT OF MODERN BREEDING METHODS 5

Semenova E.V., Kosareva I.A.

EVALUATION OF THE DROUGHT
RESISTANCE OF PEA
(*Pisum sativum* L.)
FROM THE VIR COLLECTION.

BIOTECHNOLOGY TECHNIQUES IN SEED PRODUCTION AND PLANT BREEDING 15

Gulyaeva E.I., Shaydayuk E.L.

IDENTIFICATION OF LEAF RUST
RESISTANCE GENES IN THE NEW
RUSSIAN VARIETIES OF COMMON
WHEAT.

*Anisimova I.N., Karabitsina Yu.I.,
Alpatieva N.V., Kusnetsova E.B.,
Titov N.V., Lyutko A.Yu., Gavrilova V.A.* 28

DIAGNOSTIC VALUE OF *Rf1*
GENE MOLECULAR MARKERS
IN SUNFLOWER.

*Radchenko E.E., Alpatieva N.V.,
Karabitsina Yu.I., Ryazanova M.K.,
Kuznetsova E.B., Romanova O.I.,
Anisimova I.N.* 38

DEVELOPMENT AND VALIDATION
OF CAPS-MARKER ASSOCIATED
WITH THE GENE *Rf2* IN SORGHUM
(*Sorghum bicolor* (L.) Moench).



Уважаемые читатели!

В текущем выпуске мы представляем вашему вниманию результаты в области молекулярной генетики и физиологии растений, которые могут быть интересны практикующим селекционерам. В первую очередь хотим обратить внимание на новые разработки, которые могут использоваться в программах по гибридной селекции подсолнечника и сорго.

Эти исследования выполнены в рамках развития научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего». Создание гетерозисных гибридов на основе цитоплазматической мужской стерильности является ключевой стратегией селекции многих культур. Однако процесс создания материнских стерильных линий, линий-закрепителей стерильности и восстановителей фертильности пыльцы является достаточно длительным. Его ускорение при помощи современных методов отбо-

ра генотипов определяет конкурентоспособность оригинаторов, скорость вывода ими на рынок новых гетерозисных гибридов. Особое внимание уделяется маркированию генов восстановления фертильности, *Rf*. В исследовании Е.Е. Радченко с соавторами (ВИР и СПбГУ) разработан и валидирован новый эффективный ДНК-маркер к гену *Rf2* сорго, который может быть использован в гибридной селекции данной культуры. В работе И.Н. Анисимовой с соавторами (ВИР и ЛГУ) осуществлена проверка диагностической ценности известных ДНК-маркеров к гену *Rf1* подсолнечника при использовании обширного генетического материала. В качестве наиболее эффективных определены маркеры ORS511, HRG01 и HRG02.

Вниманию специалистов по селекции гороха мы представляем работу Е.В. Семеновой и И.А. Косаревой (ВИР), по результатам которой представлены новые источники засухоустойчивости данной культуры. В работе Е.И. Гульдяевой и Е.Л. Шайдаюк (ВИЗР) на основе молекулярных маркеров проанализирован состав генов устойчивости к бурой ржавчине у 68 современных отечественных сортов мягкой пшеницы. Такой срез данных будет интересен не только для специалистов в области генетики и селекции пшеницы, но может быть полезным инструментом в стратегии подбора состава сортов для возделывания и выращивания их в производственном масштабе с целью стабилизировать популяционный состав фитопатогенов и снизить вероятность эпифитотий.

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

ДИАГНОСТИКА ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ ОБРАЗЦОВ ГОРОХА (*Pisum sativum* L.) ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ВИР

Семенова Е.В.*, Косарева И.А.

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

* ✉ semenova@vir.nw.ru

Актуальность. В результате глобального потепления, в настоящее время происходит изменение климата, влекущее за собой увеличение частоты и продолжительности засух. Поэтому первостепенное значение имеет создание новых сортов с повышенной засухоустойчивостью и адаптированных к определенным условиям. Цель данной работы – модификация экспресс-метода оценки засухоустойчивости гороха на раннем этапе роста и развития растений и диагностика данным методом 50 образцов из коллекции ВИР. **Материалы и методы.** В изучение были взяты образцы овощного гороха различного эколого-географического происхождения, предварительно изученные в полевом опыте в условиях Краснодарского края в период с 2017 по 2019 год. Для диагностики ранней засухоустойчивости гороха использовали рулонный метод оценки. Модифицировали напряженность стрессового воздействия фона – концентрацию сахарозы в растворе, используемом для роста проростков гороха. Для подбора концентрации исследовали растворы с осмотическим давлением 0,5 и 0,7 МПа. Для диагностики ранней засухоустойчивости был выбран раствор с осмотическим давлением 0,5 МПа. Диагностическим критерием метода является индекс длины корня (ИДК) – отношение усредненной длины корешков проростков на провокационном фоне к контрольным значениям. **Результаты.** Осмотически активный раствор (сахарозы) приводил к существенному снижению длины корней проростков гороха. Изученные образцы демонстрировали значительную генотипическую изменчивость по ранней засухоустойчивости, значение ИДК варьировало от 0,28 до 0,88. Выделены образцы - источники высокой засухоустойчивости в период роста проростков. Корреляционный анализ показал отсутствие достоверной связи между ИДК и показателями структуры урожая (коэффициенты корреляции от $r = +0,17$ до $r = -0,24$). **Заключение.** Используя метод определения относительной засухоустойчивости на ранних этапах развития образцов гороха выделены один высокоустойчивый образец (к-9333 из Марокко) и 10 устойчивых (к-1495, к-9372, к-9401, к-9418, к-9733, к-9909, к-9934, к-9938, к-10072, к-10116.).

Ключевые слова: горох, рулонный метод, индекс длины корня, устойчивость к засухе, осмотическое давление, раствор сахарозы, генотипическое разнообразие.

Для цитирования:

Семенова Е.В., Косарева И.А. Диагностика засухоустойчивости образцов гороха (*Pisum sativum* L.) из коллекции ВИР. *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(2):5-14. DOI: 10.30901/2658-6266-2021-2-01

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/10.30901/2658-6266-2021-2-01> **Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы. Все авторы одобрили рукопись. Конфликт интересов отсутствует.**

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0662-2019-0002 «Научное обеспечение эффективного использования мирового генофонда зернобобовых культур и их диких родичей из коллекции ВИР».

EVALUATION OF THE DROUGHT RESISTANCE OF PEA (*Pisum sativum* L.) FROM THE VIR COLLECTION

Semenova E.V.*, Kosareva I.A.

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR),
42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 19000, Russia;

* ✉ semenova@vir.nw.ru

Background. As a result of global warming, climate change is now taking place, increasing the frequency and duration of droughts. Therefore, the development of new varieties with an increased drought resistance and adaptation to certain environmental conditions is of primary importance. The aim of this work was to modify the express method of drought resistance evaluation in peas at an early stage of plant growth and development, and to apply this method to test 50 accessions from the VIR global collection. **Materials and methods.** Drought resistance studies involved garden pea accessions of different eco-geographic origin, which had been previously characterized in field tests in conditions of the Krasnodar Territory in 2017-2019. The roll-ups protocol was used for evaluating early drought resistance in the accessions. The stress intensity was modified by varying the concentration of sucrose in the solution used for growing of pea seedlings. To select an appropriate concentration, an osmotic pressure of 0.5 and 0.7 MPa was applied. As a result, the osmotic pressure of 0.5 MPa was chosen. The diagnostic criterion of the method is the radicle length index (RLI), that is, the ratio of the average radicle length of seedlings against a provocative background to the control values. **Results.** The osmotically active solution led to significant reduction in the radicle length of pea seedlings. The studied accessions exhibited considerable genetic variability for early drought tolerance, the RLI value varied from 0.28 to 0.88. Sources of high drought resistance during the period of seedling growth have been identified. The correlation analysis showed the absence of a reliable relationship between the RLI and the crop structure indicators (correlation coefficients from $r = +0.17$ to $r = -0.24$). **Conclusion.** By using the method of determining the relative drought tolerance at early stages of pea accessions development, one highly resistant (k-9333 from Morocco) and 10 resistant accessions (k-1495, k-9372, k-9401, k-9418, k-9733, k-9909, k-9934, k-9938, k-10072, and k-10116.) have been identified.

Key words: pea, roll-ups protocol, radicle length index, drought resistance, osmotic pressure, sucrose solution, genotypic diversity.

For citation:

Semenova E.V., Kosareva I.A. Evaluation of the drought resistance of pea (*Pisum sativum* L.) from the VIR collection. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(2):5-14. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-2-01

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/10.30901/2658-6266-2021-2-01> **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 ID:

Semenova E.V. <https://orcid.org/0000-0002-2637-1091>

Kosareva I.A. <https://orcid.org/0000-0001-9654-7235>

УДК 633.358:581.1:631.671.3

Поступила в редакцию: 29.04.2021

Принята к публикации: 22.06.2021

Acknowledgments: The work was carried out in the framework of the State Assignment according to the Thematic Plan of VIR, Project No. 0662-2019-0002 "Scientific support for the effective use of the World Gene Pool of leguminous crops and their wild relatives from the VIR Collections".

Введение

Процесс глобального потепления в настоящее время приводит к изменению погодных условий, в результате чего увеличиваются частота и продолжительность засух различного происхождения (Hari et al., 2020). Около 41% почв в мире подвержено этому неблагоприятному стрессорному воздействию. Засуха приводит к существенным изменениям в растительном организме. Изменяются практически все стороны метаболизма растения (Takahashi et al., 2020). Обезвоживание клетки приводит к снижению уровня процессов синтеза ряда веществ; напротив, активизируются гидролитические реакции. Увеличивается проницаемость плазмалеммы, изменяется гормональный статус, уровень азотного и фосфорного обменов. Недостаток влагообеспечения клетки приводит к снижению содержания белка, РНК (Polevoy et al., 2001). Интенсивность фотосинтеза и дыхания особенно снижаются при длительной засухе. Нарушается отток ассимилятов, тормозятся деление и растяжение клеток. Это неизбежно приводит к задержке роста растений и снижению их продуктивности (Kozhushko, 1991).

Коллекция гороха ВИР имени Н.И. Вавилова в настоящее время насчитывает более восьми тысяч образцов и отражает все мировое разнообразие данной культуры. Создание новых сортов требует всестороннего изучения мирового генофонда гороха, так как известно, что генетическая основа сорта обеспечивает его способность к адаптации (Vishnyakova et al., 2019). В Российской Федерации проводятся исследования по диагностике устойчивости образцов мировой коллекции гороха к абиотическим факторам среды (Vishnyakova et al., 2015; Puhalsky et al., 2017; Kosareva et al., 2018b), в том числе, и исследования по диагностике засухоустойчивости (Novikova, 2005; Filatova, Brailova, 2018; Soboleva, Belyaeva, 2020; Soboleva et al., 2020).

Горох – относительно влаголюбивая культура, по требовательности к влаге он превышает такие зернобобовые культуры, как фасоль, чечевица, нут и чина (Makasheva, 1979). В РФ проводятся полевые исследования генотипического разнообразия гороха на устойчивость к засухам различного типа. Известен засухоустойчивый сорт зернового гороха Чишминский 229, выведенный в Башкирии. Он превышает стандарт по продуктивности в засушливые годы (Поров, 2011). Исследования по выявлению исходного материала для выведения стабильных по продуктивности сортов гороха в засушливой зоне проведены А.А. Лысенко и Н.А. Коробовой (Lysenko, Korobova, 2019).

Для начала ростовых процессов семян, особенно мозгового гороха, требуется 100-110% влаги от их массы (Makasheva, 1979). В связи с этим, особенно актуально изучение ранней засухоустойчивости гороха на стадии прорастания семян и роста проростков. В рулонной культуре такие исследования на образцах гороха ранее не проводились, но они необходимы для получения пол-

ной информации о хранимых в коллекции генотипах. Исследования в этом направлении способствуют расширению наших представлений о методах подбора исходного материала уже в генобанке. Это первый этап пребридинговой селекции гороха. В ВИР традиционно в исследованиях засухоустойчивости экспресс-методом используют растворы осмотика (сахароза, полиэтиленгликоль), связывающего воду при росте зародышевых корешков и ростков. Растворы сахарозы, имитирующие раннюю засуху, могут быть использованы в разных концентрациях и подобраны в зависимости от устойчивости культуры к засухе. Способ выращивания проростков также различается в зависимости от целей исследования (Udovenko, 1988).

При лабораторной экспресс-диагностике устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды необходимо соблюдать определенные правила. В первую очередь, используемый семенной материал должен быть здоровым, желательным одного года и места репродукции, с высокими всхожестью и энергией прорастания. Так как степень неблагоприятного воздействия на растения в большей степени зависит от сопутствующих условий (в данном случае, от температуры), важно поддерживать заданные условия внешней среды (Kosareva, 2012).

Описываемый метод мы уже применяли для оценки ранней засухоустойчивости другого зернобобового растения – видов вики (Kosareva et al., 2018a). С его использованием были выделены образцы-источники ранней засухоустойчивости, а также комплексной устойчивости к засухе и засолению. Установленные для вики параметры тест-системы для ранней оценки засухоустойчивости не подходят для культуры гороха, что было показано опытным путем, поэтому необходима модификация метода применительно к гороху. В связи с вышесказанным, цель настоящих исследований – разработать модификацию экспресс-метода лабораторной диагностики засухоустойчивости образцов гороха и выделить источники засухоустойчивости среди образцов генобанка ВИР.

Материалы и методы

Полевую оценку 500 образцов гороха овощного направления использования проводили в 2017-2019 годах в условиях Краснодарского края. Изучение проводили в соответствии с методическими указаниями, разработанными в ВИР (Vishnyakova et al., 2010). На основании полученных данных был опубликован «Каталог мировой коллекции ВИР» (Semenova et al., 2020). Из изученного в условиях Краснодарского края набора для определения уровня засухоустойчивости на ранних этапах развития были отобраны 50 образцов различного эколого-географического происхождения одного года репродукции.

Диагностику ранней засухоустойчивости образцов проводили с использованием метода рулонной культуры. В настоящее время метод широко используется для оценки абиотической устойчивости ряда сельскохозяйствен-

ных культур (холодостойкости кукурузы; засухо- и солеустойчивости вики; солеустойчивости ячменя) (Abdullaev et al., 2015; Kosareva et al., 2018a).

Для имитации недостатка водоснабжения проростков гороха использовали раствор сахарозы, дифференцирующую концентрацию которой определяли опытным путем на трех сортах. Для приготовления раствора в 1 литр дистиллированной воды вводили навеску сахарозы: 63,0 г для создания осмотического давления в 0,5 мегапаскалей¹ (МПа), 86,6 г – 0,7 МПа. Раствор нагревали до полного растворения навески, затем его охлаждали до комнатной температуры и добавляли 1 таблетку нистатина. Далее все манипуляции с семенами (проростками) проводили в соответствии с описанным ниже протоколом модифицированного метода оценки засухоустойчивости.

Достоверность различий контроля и опыта по совокупности образцов устанавливали с помощью t-критерия Стьюдента для зависимых выборок. Рассчитаны коэффициенты корреляции Пирсона между засухоустойчивостью образца и показателями структуры урожая. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

При изучении влияния ранней засухи на рост корешков растений нами использован рулонный способ выращивания растений. Метод позволяет быстро и с небольшими затратами изучить влияние стрессора на рост корешков и побегов растений, обладает воспроизводи-

мостью, большой пропускной способностью, применяется при изучении абиотической устойчивости. Диагностическим критерием метода является индекс длины корня (ИДК) – величина отношения усредненной длины корешков проростков, выращенных на провокационном фоне (засоление, засуха, низкая температура) к контрольным значениям. Этот индекс позволяет учесть степень замедления роста корней растений, подвергнутых стрессорным воздействиям.

Разработка метода оценки ранней засухоустойчивости гороха была связана с определением концентрации раствора сахарозы, дифференцирующей образцы по величине средней длины корешков проростков (табл.).

На диаграмме (рис. 1) и в таблице 1 показано влияние растворов сахарозы с осмотическим давлением 0,5 МПа и 0,7 МПа на индекс длины корешков двух образцов гороха овощного – ‘Рейньер’ (к-9821, Германия), ‘Галоп’ (к-10090, РФ, Краснодарский край) и зернового сорта ‘КМ11ВК22’ (к-10210, Германия). С повышением напряженности стрессового воздействия фона снижается длина корешков проростков, что приводит к снижению индекса длины корешков. При имитации засухи с помощью раствора сахарозы с осмотическим давлением 0,7 МПа наблюдали средний по трем сортам ИДК=0,29, что достоверно ниже, чем ИДК=0,65 при «засухе», вызванной раствором с осмотическим давлением 0,5 МПа (уровень значимости $p=0,014$). Величина индекса зависит и от свойств генотипа: образец к-10210 в меньшей степени реагировал на наличие сахарозы в среде.

Таблица 1. Влияние сахарозы на длину зародышевых корешков сортов гороха

Table 1. Influence of sucrose on the radicle length in pea cultivars

№ каталога ВИР/ VIR catalogue number	Название сорта/ Cultivar	Характеристики корня в разных вариантах опыта/ Radicle features in different experimental trials				
		Контроль ¹ , см/ Control, cm	Засуха ¹ (0,5 МПа), см/ Drought (0.5 MPa), cm	Индекс длины корня / Radicle length index	Засуха ¹ (0,7 МПа), см/ Drought (0.7 MPa), cm	Индекс длины корня/ Radicle length index
к-9821	‘Рейньер’	8,56±0,43	4,59±0,50	0,54	1,32±0,17	0,15
к-10090	‘Галоп’	6,64±0,72	4,36±0,46	0,66	2,08±0,37	0,31
к-10210	‘КМ11ВК22’	7,04±0,55	5,22±0,48	0,74	2,86±0,34	0,41

¹ – Данные представлены в виде: среднее ± ошибка среднего.

От Редактора: внесистемные единицы измерения осмотического давления, выраженные в атмосферах (атм), в тексте заменены на единицы Международной системы единиц СИ, а именно мегапаскали (МПа). На рис.1 величина давления 5 атм соответствует 0,5 МПа, 7 атм соответствует 0,7 МПа. Editorial: Off-system units of osmotic pressure measurement expressed in atmospheres (atm) are replaced in the text by units of the International System of Units (SI), namely megapascals (MPa). In Fig.1 pressure of 5 atm stands for 0.5 MPa and 7 atm for 0.7 MPa.

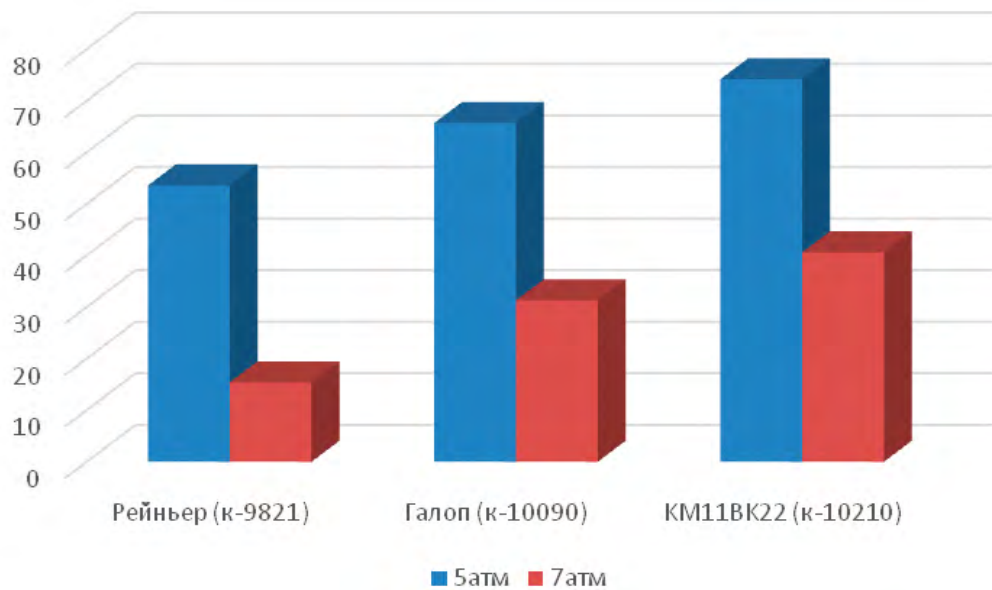
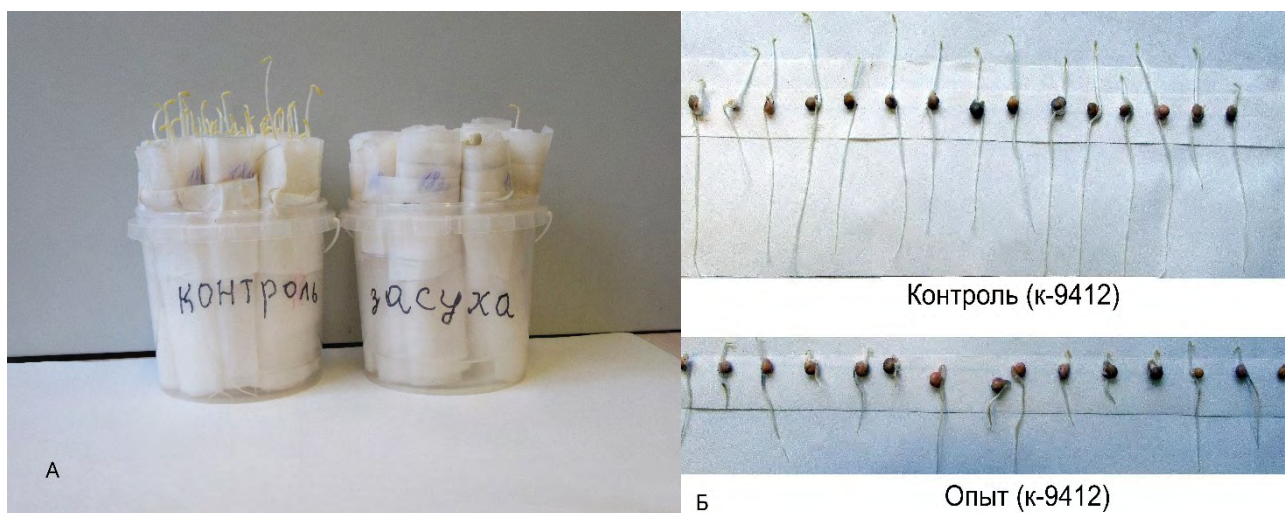


Рис. 1. Влияние различных концентраций сахарозы на ростовые параметры зародышевых корешков образцов гороха.

Fig. 1. Effect of different sucrose concentrations on the radicle growth parameters in pea accessions.



**Рис. 2. Рулонный способ оценки гороха на засухоустойчивость:
 А) Размещение рулонов в емкости с контрольным и стрессовыми вариантами.
 Б). Проростки гороха после прорастания в растворе сахарозы.**

**Fig. 2. Roll-ups for assessing drought tolerance in peas:
 A) Placement of rolls in control and stress containers.
 B) Pea sprouts after germination in sucrose solution.**

Содержание метода. На фильтровальную бумагу размером 15 см × 60 см, предварительно выдержанную при температуре 105°C в течение 1 часа, раскладывали 15 сухих семян изучаемых образцов (желательно одного года и места репродукции) по линии, отступив от верхнего края листа 2 см. Фильтровальную бумагу увлажняли в зависимости от варианта опыта: дистиллированной водой (контроль), раствором сахарозы с осмотическим давлением 0,5 МПа (вариант «засуха»). Сверху семена прикрывали так же увлажненной полоской фильтровальной бумаги (2 см × 60 см). Листы с семенами сворачивали в рулон. На один образец готовили 6 рулонов, по три на каждый вариант опыта. Рулоны переносили в сосуды с водой или растворами сахарозы (300 мл на сосуд), сосуды помещали на 5 суток в термостат с температурой 22°C. Затем рулоны разворачивали и измеряли длину корешка каждого проростка. Усредненную длину корешков проростков, характеризующую их скорость роста в условиях недостатка водоснабжения, относили к значениям для контрольной группы и получали индекс длины корня (ИДК).

Анализ литературы позволил получить представление об имеющихся методических подходах в области диагностики ранней засухоустойчивости гороха. По данным Г.В. Соболевой и В.Н. Уварова (Soboleva, Uvarov, 2015), Г.В. Соболевой и Р.В. Беляевой (Soboleva, Belyaeva, 2020), для оценки засухоустойчивости сортов гороха рекомендовано исследование всхожести семян при проращивании в чашках Петри в растворе сахарозы с осмотическим давлением 16 атм ($\approx 1,6$ МПа).

Наши исследования показали, что концентрация сахарозы 16 атм (176 г на 1 л воды), рекомендованная предыдущими авторами (Soboleva, Uvarov, 2015), при использовании рулонной культуры была слишком высокой

и губительно действовала на проростки гороха. Мы имели целью разработку модифицированного метода оценки засухоустойчивости гороха при выращивании семян в условиях рулона. Состав осмотически активной среды в нашем случае практически не изменялся. Проростки находились на существенном расстоянии друг от друга, влияние на них корневых выделений соседних проростков было минимальным.

Из результатов, представленных в таблице 1 и на рисунке 1, следует, что стрессовые фоны, обусловленные внесением сахарозы, существенно тормозили ростовые процессы в зародышевых корешках гороха: спустя 5 суток неблагоприятного воздействия это выразилось в уменьшении их длины. Особенно заметно уменьшалась длина корешков при осмотическом давлении раствора сахарозы, равном 0,7 МПа. Учитывая характеристики трех изученных на первом этапе сортов, для проведения скрининга образцов гороха нами был выбран раствор сахарозы с осмотическим давлением 0,5 МПа.

Массовый поточный скрининг образцов гороха показал, что средняя длина корешков в контрольных условиях в значительной степени зависит от сорта и составляла в конце эксперимента от 3,18 до 8,83 см (табл. 2). Неблагоприятное воздействие на прорастающие семена стрессового фона (раствора сахарозы с осмотическим давлением 0,5 МПа) тормозило рост корней, в среднем длина корней уменьшилась на 3,2 мм ($p=0,000$).

Значение ИДК у разных образцов значительно варьировало (от 0,28 до 0,88) (см. табл. 2). С учетом дифференциации ИДК образцов, было определено число групп устойчивости и величина интервалов значений ИДК. К высокоустойчивым отнесены образцы с ИДК $>0,8$, к устойчивым с ИДК от 0,6 до 0,79, к среднеустойчивым с ИДК от 0,40 до 0,59 и слабоустойчивым с ИДК $<0,40$.

Таблица 2. Распределение образцов овощного гороха по группам устойчивости к осмотическому стрессу

Table 2. Distribution of garden pea accessions between groups of resistance to osmotic stress

№ каталога VIP/VIR catalog number	Название образца / Accession name	Происхождение образца / Accession origin	Длина ¹ корня в контроле, см / Radicle length in control, cm	Доверительный интервал -95,00% / +95,00% / 95% confidence interval	Длина ¹ корня в опыте, см / Radicle length in experiment, cm	Доверительный интервал -95,00% / +95,00% / 95% confidence interval	ИДК Индекс длины корня RLI Radicle length index
Высокоустойчивые (ИДК >0,8)							
к-9333	б/н	Марокко	7,06±0,78	5,45–8,66	6,21±0,61	4,94–7,47	0,88
Устойчивые (ИДК 0,60 – 0,80)							
к-9938	WR-1167	США	6,57±0,67	5,19–7,95	4,62±0,48	3,64–5,60	0,7
к-10116	М 250-8-1	Австралия	6,61±0,84	4,88–8,33	4,53±0,53	3,45–5,61	0,69
к-1495	‘Карлик 31’	РФ, Курская обл.	8,83±0,66	7,46–10,19	5,76±0,75	4,22–7,31	0,65
к-9934	‘Mini’	Германия	6,66±0,62	5,39–7,93	4,23±0,53	3,15–5,31	0,64
к-9372	‘Екатерининский овощной’	РФ, Тамбовская обл.	5,08±0,58	3,87–6,28	3,19±0,49	2,18–4,19	0,63
к-9418	P 21 MS	Сирия	6,45±0,59	5,24–7,66	4,06±0,46	3,11–5,00	0,63
к-9401	‘Зеленый цукат’	Украина	8,44±0,55	7,32–9,57	5,14±0,51	4,10–6,18	0,61
к-9909	47-16	США	7,42±0,64	6,09–8,74	4,49±0,55	3,36–5,61	0,61
к-10072	‘Fit’	Франция	8,21±0,68	6,83–9,60	5,04±0,57	3,85–6,24	0,61
к-9733	‘Радован’	США	6,50±0,62	5,24–7,77	3,91±0,41	3,06–4,75	0,6
Среднеустойчивые (ИДК 0,40 – 0,59)							
к-9350	‘Папус’	РФ, Краснодарский край	7,78±0,74	6,24–9,32	4,56±0,65	3,20–5,93	0,59
к-9790	‘Ralitza’	Франция	7,05±0,58	5,87–8,24	4,13±0,40	3,30–4,97	0,59
к-9667	‘Kelma’	Италия	3,18±0,45	2,25–4,11	1,85±0,21	1,42–2,28	0,58
к-10194	‘Группон’	Нидерланды	5,71±0,66	4,37–7,06	3,23±0,54	2,11–4,34	0,57
к-9812	‘Хезбана’	Нидерланды	6,85±0,58	5,66–8,05	3,80±0,46	2,83–4,76	0,55
к-10169	‘Coral’	Венгрия	3,23±0,46	2,26–4,20	1,73±0,15	1,41–2,05	0,54
к-9319	б/н	Ливан	4,31±0,52	3,24–5,37	2,33±0,26	1,80–2,86	0,54
к-10063	‘Arctic sweet’	Канада	5,68±0,55	4,55–6,80	3,02±0,27	2,46–3,58	0,53
к-9651	‘Малыш’	Беларусь	7,68±0,76	6,11–9,25	4,06±0,49	3,05–5,07	0,53
к-3026	‘Champion of England’	Великобритания	6,16±0,50	5,14–7,18	3,19±0,34	2,48–3,89	0,52
к-9323	б/н	Швейцария	8,27±0,69	6,86–9,68	4,28±0,54	3,16–5,39	0,52
к-9400	‘Добрыня’	Украина	6,46±0,85	4,70–8,22	3,30±0,54	2,19–4,41	0,51
к-9970	‘Averno’	Германия	4,35±0,46	3,40–5,30	2,24±0,25	1,72–2,77	0,51
к-9455	‘Горынец’	Беларусь	5,24±0,62	3,96–6,52	2,62±0,39	1,80–3,43	0,5
к-9516	Wis 9407	США	4,43±0,60	3,19–5,68	2,22±0,28	1,63–2,82	0,50
к-9664	‘Грибовский юбилейный’	РФ, Московская обл.	3,97±0,61	2,70–5,25	1,98±0,18	1,60–2,36	0,50
к-9655	‘Veloborso’	Венгрия	3,72±0,65	2,34–5,10	1,81±0,37	1,02–2,59	0,49
к-10118	‘Sprite af, st, tl’	США	6,56±0,59	5,34–7,78	3,21±0,40	2,40–4,03	0,49
к-1711	б/н	РФ, Тамбовская обл.	8,03±0,41	7,19–8,87	3,92±0,46	2,97–4,86	0,49
к-9559	36-11	США	5,73±0,67	4,34–7,11	2,66±0,41	1,82–3,50	0,46
к-9324	б/н	Швейцария	7,11±0,64	5,80–8,43	3,25±0,39	2,46–4,04	0,46
к-9523	E-024	Эквадор	8,73±0,66	7,37–10,09	3,93±0,54	2,81–5,05	0,45
к-9815	‘Муцио’	Нидерланды	7,04±0,66	5,68–8,40	3,13±0,44	2,22–4,05	0,44
к-9448	‘Альфа 2’	РФ, Краснодарский край	4,87±0,81	3,14–6,60	2,14±0,40	1,28–3,00	0,44
к-9669	A 45 af	США	7,92±0,59	6,71–9,13	3,40±0,40	2,57–4,22	0,43
к-9953	‘Fenomen’	Франция	6,56±0,54	5,46–7,67	2,85±0,48	1,85–3,85	0,43
к-9330	‘Dafron’	Канада	7,80±0,58	6,61–8,99	3,28±0,48	2,30–4,25	0,42
к-9659	P40M	Сирия	7,10±0,54	5,99–8,21	3,00±0,30	2,38–3,63	0,42
к-9820	‘Бинго’	Нидерланды	5,68±0,72	4,19–7,16	2,26±0,33	1,56–2,96	0,4
Слабо устойчивые (ИДК < 0,40)							
к-9681	Кировский	РФ, Вологодская обл.	7,62±0,65	6,29–8,95	3,00±0,35	2,29–3,71	0,39
к-9470	‘Каскад’	Украина	6,14±0,67	4,75–7,53	2,41±0,31	1,76–3,06	0,39
к-9353	‘Исток’	РФ, Краснодарский край	8,56±0,56	7,40–9,71	3,24±0,43	2,36–4,13	0,38
к-9974	Wis 8903	США	4,92±0,59	3,71–6,13	1,88±0,24	1,39–2,37	0,38
к-9670	NLEP tl	США	5,35±0,66	3,99–6,71	1,97±0,22	1,51–2,43	0,37
к-9592	‘Чика’	РФ, Московская обл.	6,27±0,64	4,97–7,58	2,21±0,27	1,66–2,76	0,35
к-9946	‘Амбассадор’	Германия	7,26±0,53	6,16–8,36	2,35±0,27	1,80–2,91	0,32
к-9947	‘Бутана’	Нидерланды	8,42±0,55	7,28–9,56	2,63±0,29	2,03–3,24	0,31
к-9792	б/н	Китай	5,21±0,58	3,98–6,43	1,60±0,19	1,20–1,99	0,31
к-9731	‘Далила’	США	7,13±0,56	5,98–8,27	1,98±0,19	1,59–2,38	0,28

¹ – данные представлены в виде среднее ± ошибка среднего

Проанализированные образцы были распределены по группам устойчивости к стрессору. Согласно проведенному ранжированию, был выделен один высоко устойчивый и 10 устойчивых к осмотическому стрессу образцов (табл. 3).

Таблица 3. Структурный анализ образцов, выделенных по устойчивости к осмотическому стрессу на ранних этапах развития (по E.V. Semenova, 2020)

Table 3. Structural analysis of accessions distinguished by resistance to osmotic stress at early stages of development (from E.V. Semenova, 2020)

№ каталога ВИР/ VIR catalog number	Вегетационный период, суток/ Growing season, days	Средняя длина стебля, см, Average stem length, cm	Тип листа/ Leaf type	Максимальное число семян в бобе, шт./ Maximum seed number per bean, pcs.	Число бобов на растении, шт./ Number of pods per plant, pcs.	Масса семян на 1 растении, г/ Seed weight per plant, g	Масса 1000 семян, г/ 1000 seed weight, g
Высокоустойчивые							
к-9333	80	161,8	обычный	6	22,2	8,9	134
Устойчивые							
к-9372	77	72,8	обычный	10	8,0	6,8	150
к-9401	73	79,7	обычный	6	12,6	7,7	183
к-9418	78	74,7	обычный	8	7,3	4,8	190
к-9733	80	67,5	усатый	8	8,3	4,8	127
к-9909	69	155,0	обычный	6	14,2	15,2	158
к-9934	72	70,8	обычный	8	17,8	7,0	95
к-9938	77	75,7	обычный	8	12,3	15,4	161
к-10072	69	67,3	обычный	8	19,1	9,2	93
к-10116	77	72,5	усатый	6	8,8	7,0	193

Из таблицы 3 видно, что в группу устойчивых и высокоустойчивых образцов попали как раннеспелые, так и позднеспелые образцы, с усатым или листочковым типами листа, мелкосемянные и крупносемянные, высокорослые и низкорослые. Структурный анализ изученных сортов гороха позволил рассчитать коэффициенты корреляции между засухоустойчивостью на ранних этапах развития проростков (ИДК) и некоторыми показателями взрослых растений. Он указал на отсутствие достоверной связи между ИДК и показателями структуры урожая (коэффициенты корреляции от $r = +0,17$ до $r = -0,24$). Вероятно, отсутствие коррелятивной связи указывает на независимость параметра ранней засухоустойчивости (ИДК) от ростовых и продукционных характеристик гороха. Кроме того, ИДК характеризует устойчивость растений к засухе именно на ранних стадиях их развития.

Заключение

Происходящее в настоящее время изменение климата ведет к увеличению частоты и продолжительности засух. Выявление образцов, носителей ценных генов засухоустойчивости, важно при подборе исходного материала для создания сортов, обладающих устойчивостью к недостатку водоснабжения.

С использованием метода рулонной культуры разрабо-

тана модификация экспресс-метода лабораторной диагностики засухоустойчивости гороха.

Этим методом проведена сравнительная оценка 50 образцов гороха овощного направления использования. Выделен один высоко устойчивый образец (к-9333 из Марокко) и 10 устойчивых (к-1495, к-9372, к-9401, к-9418, к-9733, к-9909, к-9934, к-9938, к-10072, к-10116.), которые могут быть использованы в качестве исходного материала в селекции гороха на засухоустойчивость. Наименьшей засухоустойчивостью обладали образцы к-9731 'Далила' из США (ИДК=0,28), к-9792 из Китая (ИДК=0,31) и сорт 'Бутана' (к-9947) из Нидерландов (ИДК=0,31).

Литература/References

- Abdullaev R.A., Kosareva I.A., Radchenko E.E. Laboratory screening of barley samples from Dagestan for resistance to chloride salinization. *Research and Technical Advances of Agribusiness Sector*. 2015;29(7):24-26. [in Russian] (Абдуллаев Р.А., Косарева И.А., Радченко Е.Е. Лабораторный скрининг образцов ячменя из Дагестана по устойчивости к хлоридному засолению. *Достижения науки и техники АПК*. 2015;29(7):24-26).
- Filatova I.A., Brailova I.S. Estimation of promising selected samples and pea collection for relative drought tolerance. *Bulletin of Michurinsk State Agrarian University*. 2018;3:61-66. [in Russian] (Филатова И.А., Браилова И.С. Оценка перспективных селекционных образцов и коллекции гороха на относительную засухоустойчивость. *Вестник Мичуринского ГАУ*. 2018;3:61-66).

- Hari V., Rakovec O., Markonis Ya., Hanel M., Kumar R. Increased future occurrences of the exceptional 2018–2019 central european drought under global warming. *Scientific Reports*. 2020;10:12207. Doi: 10.1038/s41598-020-68872-9
- Kosareva I.A. The study of crops and wild relatives collections for signs of resistance to toxic elements of acid soils. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2012;170(1):35-45. [in Russian] (Косарева И.А. Изучение коллекций сельскохозяйственных культур и диких родичей по признакам устойчивости к токсическим элементам кислых почв. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2012;170(1):35-45).
- Kosareva I.A., Aleksandrova T.G., Malyshev L.L., Kravchuk N.D. Catalogue of the VIR global collection. Issue 869. Vetch: description of accessions according to the traits of their resistance to chloride salinization and drought. St. Petersburg: VIR; 2018a. [in Russian] (Косарева И.А., Александрова Т.Г., Мальшев Л.Л., Кравчук Н.Д. Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 869. Вика: характеристика образцов по признакам устойчивости к хлоридному засолению и засухе. Санкт-Петербург: ВИР; 2018a). DOI: 10.30901/978-5-905954-78-8
- Kosareva I.A., Semenova E.V., Malyshev L.L. Catalogue of the VIR global collection. Issue 860. Pea: characterization of accessions according to their resistance to aluminum toxicity of acidic soils. St. Petersburg: VIR; 2018b. [in Russian] (Косарева И.А., Семенова Е.В., Мальшев Л.Л. Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 860. Горох: Характеристика образцов по устойчивости к алюмотоксичности кислых почв. Санкт-Петербург: ВИР; 2018b).
- Kozhushko N.N. Study of drought resistance of the world gene pool of spring wheat for breeding purposes: methodological guidance. Leningrad: VIR; 1991. [in Russian] (Кожушко Н.Н. Изучение засухоустойчивости мирового генофонда яровой пшеницы для селекционных целей: методическое руководство. Ленинград: ВИР; 1991).
- Lysenko A.A., Korobova N.A. Evaluation of collection samples pea productivity elements. *International Journal of Humanities and Natural Sciences*. 2019;7(1):107-112. [in Russian] (Лысенко А.А., Коробова Н.А. Оценка коллекционных образцов гороха по элементам продуктивности. *Международный журнал гуманитарных и естественных наук*. 2019;7(1):107-112). DOI: 10.24411/2500-1000-2019-11381
- Makasheva R.Kh. Flora of cultivated plants. Vol. 4, Pt. 1. Grain legumes. Pea. Leningrad; 1979. [in Russian] (Макашева Р.Х. Культурная флора СССР. Т. 4, ч. 1. Зерновые бобовые культуры. Горох. Ленинград; 1979).
- Novikova N.E. Water-retention capacity of pea plants of various morphotypes in connection with the resistance of varieties to drought. *Scientific and technical bulletin of the All-Russian Research Institute of leguminous and cereal crops*. 2005;43:97-102. [in Russian] (Новикова Н.Е. Водоудерживающая способность растений гороха различных морфотипов в связи с устойчивостью сортов к засухе. *Научно-технический бюллетень ВНИИ зернобобовых и крупяных культур*. 2005;43:97-102).
- Polevoy V.V., Chirkova T.V., Lutova L.A., Salamatova T.S., Barashkova E.A., Kozhushko N.N., Sinelnikova V.N., Kosareva I.A. Workshop on plant growth and resistance. V.V. Polevoy, T.V. Chirkova (Eds.). St. Petersburg: Publishing house of St. Petersburg University; 2001 [in Russian] (Полевой В.В., Чиркова Т.В., Лутова Л.А., Саламатова Т.С., Барашкова Э.А., Кожушко Н.Н., Синельникова В.Н., Косарева И.А. Практикум по росту и устойчивости растений / под ред. В.В. Полевого, Т.В. Чирковой. Санкт-Петербург: Издательство Санкт-Петербургского университета; 2001).
- Popov B.K. On the relative drought resistance of the grain pea varieties. *Achievements of Science and Technology in Agro-Industrial Complex*. 2011;1:26-27. [in Russian] (Попов Б.К. Об относительной засухоустойчивости сортов зернового гороха. *Достижения науки и техники АПК*. 2011;1:26-27).
- Puhalsky Ya.V., Vishniyakova M.A., Loskutov S.I., Semenova E.V., Sekste E.A., Shaposhnikov A.I., Safronova V.I., Belimov A.A., Tikhonovich I.A. Pea (*Pisum sativum* L.) cultivars with low accumulation of heavy metals from contaminated soil. *Agricultural Biology*. 2017;52(3):597-606. [in Russian] (Пухальский Я.В., Вишнякова М.А., Лоскутов С.И., Семенова Е.В., Сексте Э.А., Шапошников А.И., Сафронова В.И., Белимов А.А., Тихонович И.А. Сорта гороха посевного (*Pisum sativum* L.) с низкой аккумуляцией тяжелых металлов из загрязненной почвы. *Сельскохозяйственная биология*. 2017;52(3):597-606). DOI: 10.15389/agrobiology.2017.3.597.rus
- Semenova E.V., Sholukhova T.A., Voiko A.P. Catalogue of the VIR global collection. Issue 910. Pea: agrobiological description of cultivars for diverse uses in the environments of Krasnodar Territory. St. Petersburg: VIR; 2020. [in Russian] (Семенова Е.В., Шолухова Т.А., Войко А.П. Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 910. Горох: агробиологическая характеристика сортов разных направлений использования в условиях Краснодарского края. Санкт-Петербург: ВИР; 2020). DOI: 10.30901/978-5-907145-16-0
- Soboleva G.V., Belyaeva R.V. Evaluation of pea samples from the collection of the VIR named after N.I. Vavilov on relative drought resistance. *Legumes and great crops*. 2020;3(35):26-31. [in Russian] (Соболева Г.В., Беляева Р.В. Оценка образцов гороха из коллекции ВИР имени Н.И. Вавилова на относительную засухоустойчивость. *Зернобобовые и крупяные культуры*. 2020;3(35):26-31). DOI: 10.24411/2309-348X-2020-11181
- Soboleva G.V., Uvarov V.N. Use of physiological methods in peas selection on drought resistance. *Zemledelie*. 2015;4:37-39. [in Russian] (Соболева Г.В., Уваров В.Н. Использование физиологических методов в селекции гороха на засухоустойчивость. *Земледелие*. 2015;4:37-39).
- Soboleva G.V., Zelenov A.A., Sobolev A.N. Comparative evaluation of resistance to osmotic stress of perspective pea breeding lines with altered architectonics of the leaf apparatus. *Legumes and great crops*. 2018;3(27):35-40. [in Russian] (Соболева Г.В., Зеленев А.А., Соболев А.Н. Сравнительная оценка устойчивости к осмотическому стрессу перспективных селекционных линий гороха с измененной архитектоники листового аппарата. *Зернобобовые и крупяные культуры*. 2018;3(27):35-40). DOI: 10.24411/2309-348X-2018-11029
- Soboleva G.V., Zelenov A.A., Sobolev A.N. Evaluation of hybrid pea populations for osmotolerance and creation of promising lines for breeding for drought tolerance based on them. *Legumes and great crops*. 2020;4(36):18-23. [in Russian] (Соболева Г.В., Зеленев А.А., Соболев А.Н. Оценка гибридных популяций гороха по осмоустойчивости и создание на их основе линий перспективных в селекции на засухоустойчивость. *Зернобобовые и крупяные культуры*. 2020;4(36):18-23). DOI: 10.24411/2309-348X-2020-11199
- Takahashi F., Kuromori T., Urano K., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. Drought stress responses and resistance in plant: from cellular responses to long-distance intercellular communication. *Frontiers in plant science*. 2020;11:1-14. DOI: 10.3389/fpls.2020.556972
- Udovenko G.V. (ed). Diagnostics of plant resistance to stress: (methodological guide). Leningrad: VIR; 1988 [in Russian] (Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям: (методическое руководство) / под ред. Г.В. Удовенко. Ленинград: ВИР; 1988).
- Vishnyakova M.A., Aleksandrova T.G., Buravtseva T.V., Burlayeva M.O., Egorova G.P., Semenova E.V., Seferova I.V., Suvorova G.N. Species diversity of the VIR collection of grain legume genetic resources and its use in domestic breeding. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2019;180(2):109-123. [in Russian] (Вишнякова М.А., Александрова Т.Г., Буравцева Т.В., Бурляева М.О., Егорова Г. П., Семенова Е.В., Сеферова И.В., Суворова Г.Н. Видовое разнообразие коллекции генетических ресурсов зернобобовых вир и его использование в отечественной селекции. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2019;180(2):109-123). DOI: 10.30901/2227-8834-2019-2-109-123
- Vishnyakova M.A., Buravtseva T.V., Bulyntsev S.V., Burlayeva M.O., Semenova E.V., Seferova I.V., Alexandrova T.G., Yankov I.I., Egorova G.P., Gerasimova T.V., Drugova E.V. VIR global collection of grain legume crop genetic resources: replenishment, conservation and studying: methodological guidelines. St. Petersburg; 2010. [in Russian] (Вишнякова М.А., Буравцева Т.В.,

-
- Булынец С.В., Бурляева М.О., Семенова Е.В., Сеферова И.В., Александрова Т.Г., Яньков И.И., Егорова Г.П., Герасимова Т.В., Другова Е.В. Коллекция мировых генетических ресурсов зерновых бобовых ВИР: пополнение, сохранение и изучение: методические указания. Санкт-Петербург; 2010).
- Vishnyakova M.A., Semenova E.V., Kosareva I.A., Kravchuk N.D., Loskutov S.I., Pukhalskii I.V., Shaposhnikov A.I., Sazanova A.L., Belimov A.A. Method for rapid assessment of aluminum tolerance of pea (*Pisum sativum* L.). *Agricultural Biology*. 2015;50(3):353-360. [in Russian] (Вишнякова М.А., Косарева И.А., Семенова Е.В., Кравчук Н.Д., Лоскутов С.И., Пухальский Я.В., Шапошников А.И., Сазанова А.Л., Белимов А.А. Метод экспресс-оценки алюмотолерантности у гороха посевного (*Pisum sativum* L.) *Сельскохозяйственная биология*. 2015;50(3):353-360). doi: 10.15389/agrobiology.2015.3/353rus

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К БУРОЙ РЖАВЧИНЕ У НОВЫХ РОССИЙСКИХ СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Гультяева Е.И.*, Шайдаюк Е.Л.

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений,
196608 Россия, г. Санкт-Петербург, Пушкин, ш. Подбельского, 3;

* ✉ eigulyaeva@gmail.com

Актуальность. Бурая ржавчина (возбудитель *Puccinia triticina* Erikss.) является серьезным заболеванием пшеницы во всех регионах Российской Федерации. Генетическое разнообразие выращиваемых сортов по типам устойчивости и генам, ее контролирующим, обеспечивает надежную защиту пшеницы от данного патогена. Цель работы – характеристика разнообразия новых российских сортов озимой и яровой мягкой пшеницы по генам устойчивости к бурой ржавчине (*Lr*-генам). **Материалы и методы.** Изучены 43 сорта озимой и 25 сортов яровой пшеницы, включенные в Государственный реестр селекционных достижений РФ в 2018-2020-х годах. С использованием молекулярных маркеров нами была проведена идентификация 18 *Lr*-генов: *Lr1*, *Lr3*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr19*, *Lr20*, *Lr21*, *Lr24*, *Lr25*, *Lr26*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr37*, *Lr41* (39), *Lr47*, *Lr66*. Фитопатологический тест был использован для уточнения результатов молекулярного анализа. **Результаты.** У 93% изученных сортов пшеницы выявлены *Lr*-гены, которые встречались по отдельности или в разных сочетаниях. Это были высоко и частично эффективные гены *Lr24*, *Lr9* и *Lr19*; гены устойчивости взрослых растений *Lr34* и *Lr37*; малоэффективные гены *Lr1*, *Lr3*, *Lr10*, *Lr20* и *Lr26*. Впервые у сортов российской селекции идентифицирован ген *Lr24*. Яровой сорт 'Лидер 80' с *Lr24* рекомендован для возделывания в Западно-Сибирском и Восточно-Сибирском регионах. У высокоустойчивого к бурой ржавчине ярового сорта 'Силач' определено эффективное сочетание генов *Lr9+Lr26*, по отдельности не обеспечивающих устойчивости к патогену. Ген *Lr9* выявлен у озимого сорта 'Герда', рекомендуемого для возделывания в Северо-Кавказском регионе. Ранее сорта с геном *Lr9* на Северном Кавказе не выращивали. Среди сортов пшеницы, проходящих районирование, отмечается увеличение числа образцов, резистентных к бурой ржавчине, защищенных эффективным геном устойчивости взрослых растений *Lr37*. Гены *Lr19*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr34*, *Lr37* сцеплены с эффективными *Sr*-генами *Sr25*, *Sr24*, *Sr31*, *Sr57* и *Sr38*, что дополнительно обеспечивает новым сортам пшеницы стабильную генетическую защиту от стеблевой ржавчины. **Заключение.** Полученные сведения представлений *Lr*-генов в сортах пшеницы следует учитывать в региональных селекционных программах. Своевременная смена генетически защищенных сортов позволяет стабилизировать популяционный состав фитопатогенов и снизить вероятность эпифитотий.

Ключевые слова: молекулярные маркеры, устойчивость, *Lr*-гены, *Puccinia triticina*, *Triticum aestivum*.

Для цитирования:

Гультяева Е.И., Шайдаюк Е.Л. Идентификация генов устойчивости к бурой ржавчине у новых российских сортов мягкой пшеницы. // *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(2):15-27. DOI: 10.30901/2658-6266-2021-2-02

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/10.30901/2658-6266-2021-2-02> **Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы. Все авторы одобрили рукопись. Конфликт интересов отсутствует.**

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания ВИЗР, проект 0665-2019-0015 «Грибы – патогены экономически значимых растений в России: разнообразие, методы идентификации и мониторинга, взаимоотношения с растениями-хозяевами».

IDENTIFICATION OF LEAF RUST RESISTANCE GENES IN THE NEW RUSSIAN VARIETIES OF COMMON WHEAT

Gulyaeva E.I.*, Shaydayuk E.L.

All-Russian Institute of Plant Protection,
3 Podbelskogo Street, St. Petersburg, Pushkin, 196608 Russia.

* ✉ eigulyaeva@gmail.com

Background. Wheat leaf rust caused by *Puccinia triticina* Erikss. is a significant wheat disease in all regions of the Russian Federation. The genetic diversity of the cultivated wheat varieties regarding the type of resistance and genes that control it ensures reliable protection of this crop against the pathogen. The aim of this work was to characterize the diversity of new Russian varieties of winter and spring common wheat for leaf rust resistance genes (*Lr*-genes). **Materials and Methods.** The research material was represented by 43 varieties of winter and 25 of spring wheat included in the State Register of Selection Achievements of the Russian Federation in 2018-2020. **Results.** Using molecular markers, 18 *Lr* genes were identified: *Lr1*, *Lr3*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr19*, *Lr20*, *Lr21*, *Lr24*, *Lr25*, *Lr26*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr37*, *Lr41* (39), *Lr47* and *Lr66*. A phytopathological test was used to clarify the results of molecular analysis. Ninety-three percent of the studied wheat varieties were found to contain *Lr* genes, either separately or in combinations. These were the highly and partially effective genes *Lr24*, *Lr9*, and *Lr19*, adult plant resistance genes *Lr34* and *Lr37*, and ineffective genes *Lr1*, *Lr3*, *Lr10*, *Lr20*, and *Lr26*. The *Lr24* gene has been identified for the first time in Russian varieties. The spring variety ‘Leader 80’, harboring this gene, is recommended for cultivation in the West Siberian and East Siberian regions. An effective combination of *Lr9* + *Lr26* genes, individually overcome by the pathogen, was determined in the spring cultivar ‘Silach’, highly resistant to leaf rust. The *Lr9* gene was found in the winter variety ‘Gerda’, which is recommended for cultivation in the North Caucasus region. Previously, the varieties with *Lr9* were not grown in the North Caucasus. An increase in the number of leaf rust resistant accessions protected by the effective adult plant resistance gene *Lr37* is noted among wheat varieties undergoing regional adaptation testing. Many of the identified *Lr* genes (*Lr19*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr34*, *Lr37*) are linked with effective *Sr* genes (*Sr25*, *Sr24*, *Sr31*, *Sr57*, and *Sr38*), which additionally ensures stable genetic protection of wheat against stem rust. **Conclusions.** The obtained information about representation of *Lr* genes in wheat varieties should be used in regional breeding programs. A timely replacement of genetically protected varieties allows stabilizing the populational composition of the phytopathogen and reducing the likelihood of epiphytotics.

Key words: molecular markers, resistance, *Lr* genes, *Puccinia triticina*, *Triticum aestivum*.

For citation:

Gulyaeva E.I., Shaydayuk E.L. Identification of leaf rust resistance genes in the new Russian varieties of common wheat. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(2):15-27. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-2-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/10.30901/2658-6266-2021-2-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 ID:

Gulyaeva E.I. <https://orcid.org/0000-0001-7948-0307>

Shaydayuk E.L. <https://orcid.org/0000-0003-3266-6272>

УДК 633.11:632.938

Поступила в редакцию: 12.05.2021

Принята к публикации: 22.06.2021

Acknowledgments: The research was performed within the framework of the State Assignment to VIZR, Project No. 0665-2019-0015 “Fungal pathogens of economically significant plants in Russia: diversity, methods of identification and monitoring, relationships with host plants”.

Введение

Буряя ржавчина пшеницы (возбудитель *Puccinia triticina* Eriks.) – серьезное заболевание пшеницы во всех регионах ее возделывания (Sanin, 2012). Возделывание сортов, генетически разнообразных по типам устойчивости и генам, ее контролирующим, обеспечивает надежную защиту от данного патогена. Вертикальная (расоспецифическая) устойчивость обуславливается олигогенами. Основная ее функция – подавление первичной инфекции патогена. Горизонтальная (неспецифическая) устойчивость проявляется в уменьшении репродуктивной способности патогена и чаще всего является полигенной. Считается, что горизонтальная устойчивость сохраняется в течение более длительного времени, чем вертикальная устойчивость, поскольку популяция патогена имеет меньше шансов накопить мутации вирулентности (Дуаков, 1998).

С 2000-х годов в России наблюдается существенный прогресс в создании и внедрении в производство новых сортов пшеницы. Число озимых сортов, включенных в Государственный реестр селекционных достижений и рекомендуемых для возделывания в Российской Федерации, в 2020-х годах увеличилось в 4 раза, по сравнению с 1990-ми годами (333 сорта в 2020 году и 113 в 1996 году), а яровых в 2,5 раза (261 и 138, соответственно) (State Register, 2021). В этот же период среди сортов пшеницы, проходивших районирование, было отмечено увеличение числа форм, резистентных к бурой ржавчине (Morgounov et al., 2011; Gulyaeva, Sadovaya, 2014).

Во Всероссийском институте защиты растений (ВИЗР) с середины 1990-х годов проводятся иммуно-генетические исследования новых сортов мягкой пшеницы, включаемых в Государственный реестр селекционных достижений РФ (State Register, 2021). Показано, что в 1996 году доля высокоустойчивых сортов в Реестре составляла менее 4%. В 2005 году она выросла до 15%. В 2006-2011 годах устойчивостью к бурой ржавчине характеризовались свыше 3% озимых и 25% яровых сортов. Эта динамика сохраняется и до настоящего времени (Gulyaeva et al., 2021).

Высокий уровень генетической защиты пшеницы достигается разнообразием по генам устойчивости. В настоящее время в «Каталоге генных символов...» представлено 80 локализованных *Lr*-генов (McIntosh et al., 2020). Надо отметить, что в практической селекции из них используется лишь менее 30 процентов. Большинство каталогизированных *Lr*-генов относится к группе «ювенильных», действие которых проявляется в фазе проростков. Гены устойчивости взрослых растений (adult plant resistance genes) обеспечивают эффективность в полевых условиях на более поздних этапах онтогенеза пшеницы, например, после выхода растений в трубку. К данной группе относятся гены *Lr12*, *Lr13*, *Lr22a*, *Lr22b*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr37*, *Lr46*, *Lr48*, *Lr67* и *Lr77*. Эффективность

большинства *Lr*-генов существенно варьирует в зависимости от вирулентности региональных популяций возбудителя.

Традиционными методами идентификации *Lr*-генов у сортов пшеницы являются: анализ родословных, который позволяет выявить использованный в скрещиваниях источник устойчивости; фитопатологический тест с помощью тест-изолятов, маркированных вирулентностью по отношению к растениям-носителям идентифицируемых генов устойчивости; гибридологический анализ. В 2000 году для идентификации генов устойчивости стали использовать молекулярные маркеры.

Особую значимость ДНК-маркеры приобрели при идентификации высоко и частично эффективных генов, определение которых с использованием фитопатологического теста затруднено из-за отсутствия в популяции патогена вирулентных изолятов. К таким генам в России относятся *Lr9*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr25*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr41(=39)*, *Lr42*, *Lr45*, *Lr47*, *Lr50*, *Lr51* и *Lr66* (Gulyaeva et al., 2021). Для большинства этих генов подобраны высокоспецифичные ДНК-маркеры (Vida et al., 2009).

Идентификация генов устойчивости взрослых растений («возрастных» генов) с использованием традиционных фитопатологических методов также сопряжена с большими методическими трудностями. Проведение фитопатологического теста в полевых условиях ограничено аэрогенным заносом спор гриба с соседних территорий. Альтернативой является использование камер искусственного климата или теплиц, однако это требует дополнительных затрат и времени. В связи с этим, молекулярные маркеры являются основным инструментом для идентификации генов этой группы. В литературе содержится обширная информация о маркерах «возрастных» *Lr*-генов (Tomkowiak et al., 2019; Atia et al., 2021). Преимущественно это микросателлитные маркеры, которые подбирают при анализе определенных гибридных популяций, и многие из них имеют ограничение для массового скрининга. Например, микросателлитный маркер *gwm630* гена *Lr13* явился высокоинформативным при анализе инбредных популяций гибридов *TcLr13* × *Frisal* и *TcLr13* × *Thatcher* в исследованиях R. Seyfarth с соавторами (Seyfarth et al., 2000). Однако, при массовом скрининге сортов пшеницы этот маркер показал себя как неинформативный (Gregáňová et al., 2003; Tyryshkin, Kurbanova, 2009; Serfling et al., 2011, Gulyaeva, 2012). В настоящее время наиболее востребованными для скрининга пшеницы являются STS- и SCAR-маркеры «возрастных» генов *Lr21*, *Lr34*, *Lr35* и *Lr37* (Vida et al., 2009; McCallum et al., 2016).

В последнее десятилетие широкое применение в мировой селекции получила стратегия «пирамидирования»¹ генов устойчивости. Речь идет о генах, которые утратили свою эффективность. Было показано, что комбинация этих генов в одном генотипе обеспечивает повышение уровня полевой устойчивости (Dakouri et al., 2013; McCallum et al., 2016). Идентификация таких групп генов

с использованием фитопатологического теста сопряжена с методическими трудностями (из-за отсутствия нужных изолятов гриба). Молекулярные маркеры являются наиболее востребованными в этой работе.

Молекулярно-генетические исследования новых российских сортов позволяют охарактеризовать их разнообразие и оценить влияние на изменение структуры популяции патогена по вирулентности. Цель данной работы: с использованием молекулярных маркеров охарактеризовать разнообразие по генам устойчивости к бурой ржавчине (*Lr*-генам) новых сортов озимой и яровой мягкой пшеницы, рекомендуемых для возделывания в РФ в 2018-2020-х годах.

Материалы и методы

Материалом для исследований являлись 41 сорт озимой и 36 сортов яровой мягкой пшеницы, впервые включенные в Государственный реестр селекционных достижений РФ в 2018-2020-х годах (табл. 1) (State Register, 2021). Семенной материал данных образцов был любезно предоставлен региональными селекционными учреждениями РФ.

От Редактора: Стратегия выстраивания «пирамиды» – одновременный отбор и/или введение сразу нескольких генов в одно растение, что обеспечивает комплементацию малоэффективных генов. «Пирамидированием» генов в русскоязычной литературе называют процесс объединения в одном генотипе нескольких генов, контролирующих один и тот же признак (Leonova, 2013). В англоязычной литературе используют термин «стекинг» (Halpin, 2005; Singh et al., 2018). Пирамидирование и отбор, осуществляемый с помощью маркеров, могут быть представлены как пирамидирование с помощью маркеров. «Стекинг» генов может быть достигнут несколькими различными способами, и пирамидирование является одним из таких методов (Servin et al., 2004; Taverniers et al., 2008).

Editor's note: The strategy of pyramiding is the simultaneous selection and/or accumulation of multiple genes in a single plant that ensures complementation of ineffective genes. “Pyramidirovaniye” of genes in the literature in the Russian language stands for the process of combining in one genotype several genes controlling the same feature (Leonova, 2013). English literature uses the term ‘stacking’ (Halpin, 2005; Singh et al., 2018). Pyramiding and Marker Assisted Selection can be combined as Marker-Assisted Pyramiding. Gene stacking can be achieved by several different ways, and pyramiding is one of them (Servin et al., 2004; Taverniers et al., 2008)

Таблица 1. Характеристика сортов озимой и яровой мягкой пшеницы, включенных в Государственный реестр селекционных достижений в 2018-2020-х годах

Table 1. Characteristics of winter and spring common wheat varieties included in the State Register of Selection Achievements in 2018-2020

Сорт/ Variety	Год включения/ Year of inclusion	Регионы районирования/ Regions of adaptation	Идентифицированные <i>Lr</i> -гены/ Identified <i>Lr</i> -genes	Устойчивость в фазе проростков к тест-клонам*/ Resistance to test clones* at the seedling stage			Устойчивость в полевых условиях**/ Resistance in the field conditions**
				<i>kLr9</i>	<i>kLr19</i>	<i>kLr26</i>	
Озимая пшеница / Winter wheat							
‘Базис’	2018	СВ	<i>Lr34</i>	S	S	S	СУ
‘Ваня’	2018	СК	<i>Lr3, Lr26, Lr34</i>	R	R	S	СУ
‘Граф’	2018	СК, НВ	<i>Lr1, Lr10, Lr37</i>	R	R	R	У
‘Дуплет’	2018	СК	<i>Lr1, Lr26, Lr34</i>	R	R	S	СВ
‘Караван’	2018	СК	<i>Lr26</i>	R	R	S	СВ
‘Краса Дона’	2018	СК, НВ	<i>Lr1</i>	S	S	S	У
‘Степь’	2018	СК	<i>Lr26</i>	R	R	S	СУ
‘Арсенал’	2019	СК, НВ	<i>Lr34</i>	S	S	S	У
‘Базальт 2’	2019	СВ	<i>Lr3, Lr34</i>	S	S	S	В

Сорт/ Variety	Год включения/ Year of inclusion	Регионы районирования/ Regions of adaptation	Идентифицированные Lr-гены/ Identified Lr-genes	Устойчивость в фазе проростков к тест-клонам*/ Resistance to test clones* at the seedling stage			Устойчивость в полевых условиях**/ Resistance in the field conditions**
				kLr9	kLr19	kLr26	
‘Бодрый’	2019	Ц	Lr1	S	S	S	B
‘Видея’	2019	СК	Lr26	R	R	S	CB
‘Герда’	2019	СК	Lr3, Lr9	S	R	R	У
‘Донмира’	2019	СК	Lr3	S	R	S	У
‘Иридаc’	2019	СК	Lr3, Lr26	R	R	S	СУ
‘Кавалерка’	2019	СК	Lr1, Lr10	S	S	S	У
‘Корона’	2019	СК	Lr1, Lr26, Lr34	R	R	S	СУ
‘Маркиз’	2019	СК	Lr37	S	R	S	СУ
‘Собербаш’	2019	ЦЧР, СК	Lr10	S	S	S	У
‘Стать’	2019	НВ	Lr34	S	S	S	СУ
‘СТРГ 8060 15’	2019	ЦЧР	Lr1, Lr26, Lr34	R	R	R	СУ
‘Тимирязевка 150’	2019	ЦЧР, СК, НВ	Lr26	R	R	S	У
‘Фелиция’	2019	Ц	Lr3, Lr34	S	S	S	CB
‘Шеф’	2019	СК	Lr3, Lr10, Lr34	S	S	S	У
‘Этюд’	2019	СК, НВ	Lr3	S	S	S	СУ
‘Альтернатива’	2020	СВ	Lr1, Lr34	S	S	S	СУ
‘Анастасия’	2020	НВ	Lr3, Lr34	R	S	S	СУ
‘Армада’	2020	ЦЧР, СК	-	S	S	S	У
‘Ахмат’	2020	ЦЧР, СК	Lr1, Lr26	R	R	S	У
‘Барыня’	2020	СК	Lr10	R	S	R	CB
‘Былина Дона’	2020	СК	-	S	S	R	У
‘Вольница’	2020	СК	Lr1, Lr34	S	R	S	СУ
‘Вольный Дон’	2020	СК	Lr1, Lr34	S	S	S	СУ
‘Вьюга’	2020	СВ	Lr1 Lr3, Lr34	S	S	S	СУ
‘Гомер’	2020	ЦЧР, СК	Lr1, Lr37	S	S	R	У
‘Донская степь’	2020	СК, НВ	Lr3	S	S	S	СУ
‘Еланская’	2020	НВ	-	S	S	S	СУ
‘Еланчик’	2020	СК, НВ	Lr3	S	R	R	У
‘Жаворонок’	2020	СК, НВ	Lr34	S	S	S	У
‘Паритет’	2020	НВ	Lr10, Lr26, Lr34	R	R	S	У
‘Секлетия’	2020	СК, НВ	Lr34	R	S	S	СУ
‘Цефей’	2020	ЦЧР	Lr1, Lr3	S	S	S	СУ
Яровая пшеница / Spring wheat							
‘Алабуга’	2018	У	Lr26	R	R	S	B
‘Тюменская юбилейная’	2018	ЗС	Lr1	S	S	S	B
‘Аль варис’	2019	СВ	Lr26	R	R	S	B
‘Бурлак’	2019	Ц	Lr3, Lr10	S	R	R	B
‘Гренада’	2019	У	Lr26	R	R	S	B
‘Каменка’	2019	Ц, ВВ	Lr10	S	S	S	CB

Сорт/ Variety	Год включения/ Year of inclusion	Регионы районирования/ Regions of adaptation	Идентифицированные Lr-гены/ Identified Lr-genes	Устойчивость в фазе проростков к тест-клонам*/ Resistance to test clones* at the seedling stage			Устойчивость в полевых условиях**/ Resistance in the field conditions**
				kLr9	kLr19	kLr26	
‘Корнетто’	2019	ЦЧР	-	S	S	S	CB
‘Нерда’	2019	У	Lr3, Lr26	R	R	R	B
‘Новосибирская 16’	2019	BC	Lr1, Lr3, Lr10	S	S	S	B
‘Одета’	2019	Ц, ЦЧР	Lr37	S	S	S	CB
‘Омская 42’	2019	ЗС	Lr10, Lr34	S	S	S	CB
‘Омская юбилейная’	2019	ЗС	Lr3, Lr10, Lr34	S	S	S	B
‘Старт’	2019	BC	Lr9, Lr34	S	R	R	CB
‘Столыпинская 2’	2019	У, ЗС	Lr3, Lr34	S	R	S	CB
‘Уралосибирская 2’	2019	У, ЗС	Lr26	R	R	S	B
‘Экада 214’	2019	CB	Lr20	S	R	R	CB
‘Александрит’	2020	CB, НВ, У	Lr19	R	S	R	У
‘Арсея’	2020	Ц	Lr1	R	S	R	B
‘Гаренда’	2020	Ц	Lr37	S	S	S	СУ
‘Зауральская волна’	2020	У, ЗС	Lr3, Lr10, Lr19	R	R	R	У
‘Зауральская жемчужина’	2020	У	Lr1, Lr3, Lr10, Lr26	R	R	S	B
‘Зауральский янтарь’	2020	У	Lr3, Lr10, Lr26	R	R	S	B
‘Изера’	2020	Ц	Lr34	S	S	S	B
‘Ирень 2’	2020	ВВ, ЗС	-	S	S	S	B
‘Калинка’	2020	У	Lr10	S	S	S	B
‘Краснозёрка’	2020	У	Lr1, Lr3, Lr26	R	R	S	B
‘Лидер 80’	2020	ЗС, BC	Lr24	R	R	R	CB
‘Лютеция’	2020	У	Lr1, Lr10, Lr26	R	R	R	У
‘ОМГАУ 100’	2020	ЗС	Lr10, Lr26	R	R	S	B
‘Оренбургская юбилейная’	2020	У	Lr3	R	S	S	B
‘Радмира’	2020	ВВ	Lr3	S	S	S	СУ
‘Силач’	2020	У	Lr9, Lr10, Lr26	R	R	R	У
‘Тарская 12’	2020	ЗС	Lr10	S	S	S	B
‘Токката’	2020	Ц, ЦЧР	Lr37	S	R	S	CB
‘Флоренс’	2020	Ц		S	S	S	CB
‘Экстра’	2020	ВВ, У, ЗС	Lr3, Lr10	S	S	S	B

Примечания. Регионы: СЗ – Северо-Западный, Ц – Центральный, ЦЧР – Центрально-Черноземный, ВВ – Волго-Вятский, CB – Средневолжский, СК – Северокавказский, У – Уральский, ЗС – Западно-Сибирский, BC – Восточно-Сибирский.

* R – реакция устойчивости (тип реакции от 0 до 2 баллов), S – восприимчивость (баллы: 3, 4, X).

** Согласно характеристике, представленной в Государственном реестре: У – устойчивый, СУ – среднеустойчивый, CB – средневосприимчивый, B – восприимчивый.

Notes. Regions: СЗ – Northwestern, Ц – Central, ЦЧР – Central Chernozem, ВВ – Volgo-Vyatka, CB – Middle Volga, СК – North Caucasian, У – Urals, ЗС – West Siberian, BC – East Siberian.

* R – resistance response (scores 0, 1, 2), S – susceptibility (scores 3, 4, X).

** According to the characteristics submitted to the State Register: У – resistant, СУ – moderately resistant, CB – moderately susceptible, B – susceptible.

ДНК выделяли из листьев 5-дневных проростков микрометодом (Dorokhov, Kloke, 1997). Из каждого сорта брали по три растения. Концентрация ДНК в рабочем растворе составляла 50-100 нг/мкл. Полимеразную цепную реакцию проводили в амплификаторе MyCycler Thermal Cycler (BioRad, США) по протоколам, предложенным разработчиками праймеров. Амплифицированные фрагменты разделяли электрофорезом в 1,5% агарозном геле в 1× TBE-буфере, гели окрашивали бромистым

этидием и фотографировали в ультрафиолетовом свете.

Идентификацию высокоэффективных генов *Lr24*, *Lr25*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr41* (39), *Lr47*, *Lr66*; частично эффективных генов *Lr9*, *Lr19*; генов устойчивости взрослых растений *Lr21*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr37*; малоэффективных генов *Lr1*, *Lr3*, *Lr10*, *Lr20* и *Lr26* проводили с использованием молекулярных маркеров. Информация о маркерах представлена в таблице 2.

Таблица 2. Молекулярные маркеры, использованные для идентификации *Lr*-генов

Table 2. Molecular markers used for the identification of *Lr* genes

<i>Lr</i> -ген/ <i>Lr</i> -gene	Маркеры/ Markers	Источник/ Source
<i>Lr1</i>	WR003 F/R	Qiu et al., 2007
<i>Lr3a</i>	Xmwig798	Herrera-Foessel et al., 2007
<i>Lr9</i>	SCS5 ₅₅₀	Gupta et al., 2005
<i>Lr10</i>	F1.2245/Lr10-6/r2 Lrk10-6 Lrk10-D	Chelkowski et al., 2003 Schachermayr et al., 1997
<i>Lr19</i>	SCS265	Gupta et al., 2006
<i>Lr20</i>	STS638	Neu et al., 2002
<i>Lr21</i>	Lr21F/R	Fritz, 2019
<i>Lr24</i>	Sr24#50 и Sr24#12	Mago et al., 2005
<i>Lr25</i>	Lr25F20/R19	Procnier et al., 1995
<i>Lr26</i>	SCM9	Weng et al., 2007
<i>Lr28</i>	SCS421 ₅₇₀	Cherukuri et al., 2005
<i>Lr29</i>	Lr29F24	Procnier et al., 1995
<i>Lr34</i>	csLV34	Lagudah et al., 2006
<i>Lr35</i>	Sr39#22r,	Mago et al., 2009
<i>Lr37</i>	Ventriup/LN2	Helguera et al., 2003
<i>Lr41</i> (39)	GDM35	Pestsova et al., 2000; Brown-Guedira, Singh, 2019
<i>Lr47</i>	PS10	Helguera et al., 2000
<i>Lr66</i>	S13-R16	Marais et al., 2010

Для уточнения результатов ПЦР-анализа провели фитопатологический тест с использованием клонов гриба, маркированных вирулентностью по отношению к растениям-носителям генов *Lr9* (*kLr9*), *Lr19* (*kLr19*) и *Lr26* (*kLr26*). Тест-клоны были авирулентными по отношению к линиям Thatcher (*TcLr*) с генами *Lr24*, *Lr23*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr39*(=41), *Lr45*, *Lr47*, *Lr51*, *Lr53* и вирулентными по отношению к носителям генов *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c* *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr10*, *Lr14a*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr17*, *Lr18*, *Lr20*, *Lr30*. Клон гриба *kLr9* был вирулентным по отношению к линии *TcLr9* и авирулентным по отношению к *TcLr19*, *TcLr26*; клон *kLr19* вирулентным по отношению к *TcLr19* и авирулентным в отношении *TcLr9*, *TcLr26*; клон гриба *kLr26* был вирулентным по отношению к *TcLr26*, авиру-

лентным в отношении линии *TcLr9*, *TcLr19*.

Десяти-двенадцати дневные проростки (фаза первого листа), выращенные в сосудах с почвой, опрыскивали суспензией спор каждого тест-клона. Для приготовления суспензии использовали иммерсионную жидкость 3М™ Novoc™ 7100 (3М™). Растения после заражения помещали в светоустановку с контролируемыми условиями (температура 20°C, фотопериод 16 ч день/6 ч ночь). Тип реакции пшеницы определяли по шкале E.V. Mains, H.S. Jackson (McIntosh et al., 1995), где: 0 – отсутствие симптомов; 0 – некрозы без пустул; 1 – очень мелкие пустулы, окруженные некрозом; 2 – пустулы среднего размера, окруженные некрозом или хлорозом; 3 – пустулы среднего размера без некроза, 4 – крупные пустулы

без некроза, X – пустулы на одном и том же листе разных типов, присутствуют хлорозы и некрозы. Растения, поражение которых составляло 0-2 балла, относили к устойчивым (R), а 3, 4 и X баллов – к восприимчивым (S).

Результаты и обсуждение

С использованием молекулярных маркеров у 77 новых сортов мягкой пшеницы, рекомендуемых к возделыванию в РФ в 2018-2020-х годах, провели идентификацию восемнадцати генов устойчивости к бурой ржавчине. В изученном материале выявлено десять *Lr*-генов, в том числе высоко и частично эффективные гены *Lr9*, *Lr19* и *Lr24*, гены устойчивости взрослых растений *Lr34* и *Lr37* и малоэффективные гены *Lr1*, *Lr3*, *Lr10*, *Lr20* и *Lr26*.

Ген *Lr24* идентифицирован у ярового сорта 'Лидер 80'. Источником участка хромосомы с этим геном в геноме мягкой пшеницы является *Agropyron elongatum* (Host) Beauvois (= *Thinopyrum (Th) ponticum* (Podp.) Barkworth & Dewey). В этом же участке находится ген *Sr24*, высокоэффективный в защите от стеблевой ржавчины. В Государственном сортоиспытании 'Лидер 80' характеризовался групповой устойчивостью к бурой и стеблевой ржавчине, мучнистой росе, имел хорошие хлебопекарные качества и высокую урожайность (State Register, 2021). До 2020-х годов в Реестре было три сорта с геном *Lr24*, но все они были иностранного происхождения: 'Kanyuk' (+IAL.IRS+*Lr20*) (SECOBRA Recherches S.A.S.), 'KWS Akvilon', 'KWS Sunset' (KWS LOCHOW GmbH) (Gulyaeva et al., 2021). Таким образом, 'Лидер 80' – это первый российский сорт с геном *Lr24*. Данный сорт получен индивидуальным отбором из сорта 'ШТРУ/Р-29' германской селекции и рекомендован для возделывания в Западно-Сибирском и Восточно-Сибирском регионах.

Частично эффективный ген *Lr9* выявлен у озимого сорта 'Герда', рекомендуемого для возделывания в Северо-Кавказском регионе и яровых сортов 'Старт' и 'Силач', рекомендуемых для Восточно-Сибирского и Уральского регионов соответственно. 'Герда' – первый озимый сорт с геном *Lr9*, рекомендуемый для возделывания на Северном Кавказе. До 2020-х годов озимые сорта с геном *Lr9* ('Сплав', 'Немчиновская 24', 'Немчиновская 17') возделывали только в центрально-европейской части России (Центральный, Центрально-Черноземный, Северо-Западный регионы), а яровые – в западно-азиатской (Уральский, Западно-Сибирский, Восточно-Сибирский регионы). Наряду с геном *Lr9* у сорта 'Герда' определен малоэффективный ген *Lr3*, у сорта 'Старт' – ген устойчивости взрослых растений *Lr34*, у сорта 'Силач' – малоэффективные гены *Lr26* и *Lr10*. В фитопатологическом тесте сорта 'Герда' и 'Старт' показали реакцию восприимчивости при инокуляции тест-клоном *kLr9* и устойчивость к другим клонам (*kLr19*, *kLr26*), что подтверждает наличие у них гена *Lr9*. Сорт 'Силач' был устойчив ко всем клонам. Обусловлено это тем, что в российских популяциях патогена отсутствуют изо-

ляты, одновременно устойчивые к действию генов *Lr9* и *Lr26*, соответственно «пирамидирование» данных генов является эффективным. В то же время такого эффекта не наблюдается при сочетании гена *Lr9* с другими малоэффективными генами (*Lr1*, *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr10*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr20*, *Lr30* и др.) (Gulyaeva et al., 2021).

Ген *Lr9* перенесен в мягкую пшеницу от *Aegilops umbellulata* Zhuk. (McIntosh et al., 1995) и долгое время сохранял высокую эффективность в России. Первые изоляты, устойчивые к действию гена *Lr9*, были отмечены в Западной Сибири и на Урале в 2008 году (Meshkova et al., 2012), и далее их частота стала стремительно нарастать. Обусловлено это широким возделыванием яровых сортов с *Lr9* в этих регионах. В европейской части России устойчивость к действию гена *Lr9* впервые отмечена в 2013 году. Однако, в отличие от западно-азиатских регионов, существенной динамики ее нарастания в последующий период не выявлено (Gulyaeva et al., 2021). На Северном Кавказе ген *Lr9* остается высокоэффективным по настоящее время (Agarova et al., 2020).

Частично эффективный ген *Lr19* идентифицирован у двух яровых сортов 'Александрит' и 'Зауральская волна', рекомендуемых для возделывания в Уральском регионе. Дополнительно у сорта 'Зауральская волна' выявлены малоэффективные гены *Lr3* и *Lr10*. Данные молекулярно-биологического анализа согласуются с фитопатологическим тестом. Оба сорта были восприимчивы к тест-клону, устойчивому к действию гена *Lr19*, и устойчивы к другим используемым клонам. Сегмент хромосомы с геном *Lr19* передан мягкой пшенице от *Agropyron elongatum*. В этом же сегменте находится ген *Sr25* – высокоэффективный в защите от стеблевой ржавчины. Ген *Lr19* широко распространен в сортах пшеницы, возделываемых в Поволжье. Их начали возделывать с конца 1980-х годов, а в середине 1990-х годов защитный эффект гена *Lr19* был преодолен (Sibikeev et al., 2007). В 2000-х годах степень вирулентности патогена, то есть устойчивости к защитной реакции растений-носителей *Lr19*, значимо увеличилась не только в Поволжье, но и в других регионах России (Центральном, Центрально-черноземном, Уральском, Западно-Сибирском) (Gulyaeva et al., 2009; Zhemchuzhina, Kurkova, 2010; Gulyaeva et al., 2020). При этом в 2010-х годах повсеместно наблюдается тенденция к ее снижению (Gulyaeva et al., 2020).

Продление срока «полезной жизни» гена *Lr19* может быть обеспечено эффективным «пирамидированием» с другими малоэффективными генами. (Sibikeev et al., 2011). Подтверждением этого являются устойчивые к бурой ржавчине яровые сорта 'Омская 37', 'Омская 38' и 'Омская 41' (*Lr19* + *Lr26*), сорт 'Тулайковская 108' (*Lr19* + дополнительный, не идентифицированный ген от сорта 'Тулайковская белозерная'), сорт 'Лебедушка' (*Lr19* + *Lr6Agi*) (Sibikeev et al., 2017).

Согласно характеристике, представленной в Госу-

дарственном реестре селекционных достижений (State Register, 2021), большинство новых озимых сортов (83%) характеризуются полевой устойчивостью к бурой ржавчине (см. табл. 1). Фитопатологический скрининг в фазе проростков показал, что тип их реакции к бурой ржавчине варьировал от устойчивого (R) до восприимчивого (S), в зависимости от используемого клона (см. табл. 1). Это указывает на отсутствие у данных сортов высокоэффективных «ювенильных» *Lr*-генов.

В результате молекулярно-генетического анализа у озимых и яровых сортов пшеницы не выявлено эффективных генов устойчивости взрослых растений *Lr21* и *Lr35*, но определена высокая представленность генов *Lr37* и *Lr34*. Ген *Lr37* идентифицирован у озимых сортов ‘Маркиз’, ‘Гомер’, ‘Граф’ и яровых ‘Одета’, ‘Гаренда’, ‘Токката’. У сорта ‘Маркиз’ дополнительно определен малоэффективный ген *Lr1*, а у сорта ‘Гомер’ – два гена: *Lr1* и *Lr10*. До 2018 года в Реестре (State Register, 2021) было только два озимых сорта с геном *Lr37* (‘Сварог’ и ‘Морозко’ (+*Lr1*)). Все озимые сорта с геном *Lr37* созданы в Национальном центре зерна имени П.П. Лукьяненко и рекомендованы для возделывания в Северо-Кавказском регионе. Яровые сорта с геном *Lr37* преимущественно относятся к результатам зарубежной селекции.

Участок хромосомы с геном *Lr37* передан мягкой пшенице от *Triticum ventricosum* Ces. (= *Aegilops ventricosa* Tausch.). В этой транслокации также находятся гены устойчивости к стеблевой (*Sr38*) и желтой (*Yr17*) ржавчине, ген устойчивости к церкоспореллезной корневой гнили *Pch2* и ген устойчивости к злаковой цистообразующей нематоды *Cre5* (McIntosh et al., 1995). В середине 2000-х годов ген утратил эффективность в Западной Европе в связи с массовым выращиванием сортов-носителей данного гена (Serfling et al., 2011). В России эффективность *Lr37* варьирует в разных регионах от высокой до умеренной (Plotnikova, Shtubey, 2012; Sochalova, Likhenko, 2016).

Ген *Lr34* идентифицирован у 44% озимых сортов и 10% яровых. Он встречался по отдельности, либо в сочетании с малоэффективными генами *Lr1*, *Lr3*, *Lr10* и *Lr26* (табл. 1). Ген *Lr34* находится в одном кластере с генами устойчивости к мучнистой росе (*Pm38*), стеблевой (*Sr57*) и желтой ржавчине (*Yr18*). Он относится к группе генов, обеспечивающих устойчивость как качественного, так и количественного проявления (то есть частичную устойчивость или, иначе, устойчивость по типу медленного развития – *slow rusting*) (McIntosh et al., 1995). Этот тип устойчивости характеризуется более

длительным латентным периодом, уменьшением числа пустул на единицу поверхности листа, количества спор в пустуле и их размера. Ген утратил свою эффективность в России в 1980-х годах. Обеспечено это широким возделыванием сортов с *Lr34*, в частности сорта ‘Безостая 1’. Последующая гибридизация с использованием сорта ‘Безостая 1’ предопределила широкое распространение гена *Lr34* в современных сортах.

Наряду с геном *Lr34*, у изученных озимых и яровых сортов широко представлены малоэффективные «ювенильные» гены *Lr1*, *Lr3*, *Lr10* и *Lr26* (см. табл. 1). Они идентифицированы у сортов по одному или в сочетаниях. В литературе имеется информация, что комбинация гена *Lr34* с генами «возрастной» и «ювенильной» устойчивости обеспечивает аддитивный эффект, способствующий длительной полевой устойчивости сортов (Singh, Trethowan, 2007). А. Dakouri с соавторами (Dakouri et al., 2013) показали, что образцы пшеницы, несущие три и более малоэффективных «ювенильных» генов (*Lr1*, *Lr3*, *Lr10*, *Lr20*, *Lr26*), имели более высокий уровень устойчивости в полевых условиях по сравнению с сортами, имеющими один или два из этих генов. Дополнительное присутствие гена *Lr34* усиливало эффект этих «ювенильных» генов.

Проведенный молекулярно-генетический анализ позволил охарактеризовать разнообразие новых российских сортов по *Lr*-генам. У 93% изученных сортов определены маркеры идентифицируемых генов по отдельности или в различных сочетаниях (табл. 3). Результаты изучения новых районированных сортов указывают на значительные успехи в селекции мягкой пшеницы на устойчивость к бурой ржавчине в России. Многие идентифицированные *Lr*-гены (*Lr19*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr34*, *Lr37*) сцеплены с эффективными *Sr*-генами – *Sr25*, *Sr24*, *Sr31*, *Sr57* и *Sr38*, что дополнительно обеспечивает стабильную генетическую защиту пшеницы от стеблевой ржавчины. Проведенный анализ наглядно демонстрирует значимость генетического скрининга *Lr*-генов у новых сортов пшеницы и необходимость использования этой информации в региональных селекционных программах. Использование ДНК-маркеров значительно ускоряет и упрощает процесс идентификации *Lr*-генов, позволяет выявить гены, не выявляемые иными методами. Однако, для корректной интерпретации результатов молекулярно-биологического скрининга необходим комплексный подход в изучении материала, который кроме ПЦР-анализа должен включать фитопатологические методы.

Таблица 3. Представленность *Lr*-генов у сортов мягкой пшеницы, включенных в Государственный реестр селекционных достижений в 2018-2020-х годах.

Table 3. Representation of *Lr* genes in common wheat varieties included in the State Register of Selection Achievements in 2018-2020

<i>Lr</i> -гены и их сочетания в сортах мягкой пшеницы/ <i>Lr</i> genes and their combinations in common wheat varieties	Доля сортов, %/ Cultivar fraction, %
Высоко и частично эффективные гены и их комбинации с другими генами у сортов пшеницы Highly and partially effective genes and their combinations with other genes in wheat varieties	
<i>Lr24</i>	1
<i>Lr19</i>	1
<i>Lr3, Lr9</i>	1
<i>Lr9, Lr34</i>	1
<i>Lr9, Lr10, Lr26</i>	1
<i>Lr3, Lr10, Lr19</i>	1
Гены устойчивости взрослых растений и их комбинации с другими генами у сортов пшеницы Adult plant resistance genes and their combinations with other genes in wheat varieties	
<i>Lr34</i>	8
<i>Lr37</i>	5
<i>Lr1, Lr34</i>	4
<i>Lr1, Lr37</i>	1
<i>Lr3, Lr34</i>	5
<i>Lr10, Lr34</i>	1
<i>Lr1, Lr3, Lr34</i>	1
<i>Lr1, Lr26, Lr34</i>	4
<i>Lr1, Lr10, Lr37</i>	1
<i>Lr3, Lr10, Lr34</i>	3
<i>Lr3, Lr26, Lr34</i>	1
<i>Lr10, Lr26, Lr34</i>	1
Малоэффективные гены и их комбинации у сортов пшеницы Ineffective genes and their combinations in wheat cultivars	
<i>Lr1</i>	5
<i>Lr3</i>	8
<i>Lr10</i>	6
<i>Lr20</i>	1
<i>Lr26</i>	10
<i>Lr1, Lr10</i>	1
<i>Lr1, Lr3</i>	1
<i>Lr1, Lr26</i>	1
<i>Lr3, Lr10</i>	3
<i>Lr3, Lr26</i>	3
<i>Lr10, Lr26</i>	1
<i>Lr1, Lr3, Lr10</i>	1
<i>Lr1, Lr3, Lr26</i>	1
<i>Lr1, Lr10, Lr26</i>	1
<i>Lr3, Lr10, Lr26</i>	1
<i>Lr1, Lr3, Lr10, Lr26</i>	1

Заключение

Оценено генетическое разнообразие современных российских сортов мягкой пшеницы, впервые рекомендуемых к возделыванию в РФ в 2018-2020-х годах, по устойчивости к возбудителю бурой ржавчины. С 2005 года сохраняется тенденция увеличения доли устойчивых к бурой ржавчине сортов озимой и яровой пшеницы в процессе районирования. В результате молекулярно-генетического анализа у 93% изученных сортов пшеницы выявлены маркеры идентифицируемых *Lr*-генов по отдельности и в разных сочетаниях. Выделены высокоустойчивые яровые сорта, защищенные геном *Lr24* ('Лидер 80') и эффективным сочетанием частично эффективных генов *Lr9+Lr26* ('Силач'). В процессе районирования возрастает число сортов, защищенных эффективным геном устойчивости взрослых растений *Lr37*. Полученные сведения популяционных исследований о представленности *Lr*-генов в сортах пшеницы следует учитывать в региональных селекционных программах. Своевременная смена генетически защищенных сортов позволяет снизить вероятность эпифитотий и стабилизировать популяционный состав фитопатогенов.

References/Литература

- Agapova V.D., Vaganova O.F., Volkova G.V. The efficiency of juvenile genes of orange leaf rust resistance of winter wheat during the germinal phase in the climate of the Russian South. *International Research Journal*. 2020;8(98):163-167. [in Russian] (Агапова В.Д., Ваганова О.Ф., Волкова Г.В. Эффективность ювенильных генов устойчивости к возбудителю бурой ржавчины озимой пшеницы в фазу проростков в условиях юга России. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2020;8(98):163-167). DOI: 10.23670/IRJ.2020.98.8.023
- Atia M.A.M., El-Khateeb E.A., Abd El-Maksoud R.M., Abou-Zeid M.A., Salah A., Abdel-Hamid A.M.E. Mining of leaf rust resistance genes content in Egyptian bread wheat collection. *Plants*. 2021;10(7):1378. DOI: 10.3390/plants10071378
- Brown-Guedira G., Sing S. Leaf Rust Resistance Gene *Lr39*. *MasWheat. Marker Assisted Selection in Wheat*. 2019. Available from: <https://maswheat.ucdavis.edu/protocols/Lr39> [accessed on 10 May 2021].
- Chelkowski J., Golka L., Stepien L. Application of STS markers for leaf rust resistance genes in near-isogenic lines of spring wheat cv. Thatcher. *Journal of Applied Genetics*. 2003;44:323-338.
- Cherukuri D.P., Gupta S.K., Charpe A., Koul S., Prabhu K.V., Singh R.B., Haq Q.M.R. Molecular mapping of *Aegilops speltoides* derived leaf rust resistance gene *Lr28* in wheat. *Euphytica*. 2005;143:19-26. DOI: 10.1007/s10681-005-1680-6
- Dakouri A., McCallum B.D., Radovanovic N., Cloutier S. Molecular and phenotypic characterization of seedling and adult plant leaf rust resistance in a world wheat collection. *Molecular Breeding*. 2013;32:663-677. DOI: 10.1007/s11032-013-9899-8
- Dorokhov D.B., Kloke E. A rapid and economical technology of RAPD analysis of plant genomes. *Russian Journal of Genetics*. 1997;33(4):358-365. [in Russian] (Дорохов Д.Б., Клоке Э. Быстрая и экономичная технология RAPD анализа растительных геномов. *Генетика*. 33(4):443-450).
- Dyakov Yu.T. Population biology of phytopathogenic fungi (Populyatsionnaya biologiya fitopatogennykh gribov). Moscow: "Muravey" Publishing House; 1998. [in Russian] (Дьяков Ю.Т. Популяционная биология фитопатогенных грибов. Москва: Издательский дом «Муравей»; 1998).
- Fritz A. Leaf Rust Resistance Gene *Lr21*. *Marker Assisted Selection in Wheat (MasWheat)*. 2019. Available from: <http://maswheat.ucdavis.edu/protocols/Lr21> [accessed on 10 May 2021].
- Gregánová Ž., Kraic J., Gálová Z. Diagnostic of wheat leaf rust resistance genes by DNA markers and their application in MAS. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. 2003;39:127-129. DOI: 10.17221/3730-CJGPB
- Gulyaeva E.I. Methods for identification of wheat leaf rust resistance genes using DNA markers and characterization of the efficiency of *Lr* genes (Metody identifikatsii genov ustoychivosti pshenitsy k buroy rzhavchine s ispolzovaniyem DNK-markeroi i kharakteristiki effektivnosti *Lr*-genov). St. Petersburg; 2012. [in Russian] (Гуляева Е.И. Методы идентификации генов устойчивости пшеницы к бурой ржавчине с использованием ДНК-маркеров и характеристика эффективности *Lr*-генов. Санкт-Петербург; 2012).
- Gulyaeva E.I., Baranova O.A., Dmitriev A.P.V. Virulence and population structure of *Puccinia triticina* in Russian Federation in 2007. *Plant Protection News*. 2009;4:33-38. [in Russian] (Гуляева Е.И., Баранова О.А., Дмитриев А.П. Вирулентность и структура популяций *Puccinia triticina* в Российской Федерации в 2007 году. *Вестник защиты растений*. 2009;4:33-38).
- Gulyaeva E.I., Sadovaya A.S. Breeding of common wheat for resistance to brown rust of wheat in Russia. *Plant Protection and Quarantine*. 2014;10:24-26. [in Russian] (Гуляева Е.И., Садовая А.С. Селекция на устойчивость к бурой ржавчине в России. *Защита и карантин растений*. 2014;10:24-26).
- Gulyaeva E.I., Shaydayuk E.L., Gannibal Ph.B. Leaf rust resistance genes in wheat cultivars registered in Russia and their influence on adaptation processes in pathogen populations. *Agriculture*. 2021;11(4):319. DOI: 10.3390/agriculture11040319
- Gulyaeva E.I., Shaydayuk E.L., Kosman E.G. Regional and temporal differentiation of virulence phenotypes of *Puccinia triticina* from common wheat in Russia during the period 2001-2018. *Plant Pathology*. 2020;69(5):860-871. DOI: 10.1111/ppa.13174
- Gupta S.K., Charpe A., Koul S., Prabhu K.V., Haq Q.M.R. Affiliations expand development and validation of molecular markers linked to an *Aegilops umbellulata*-derived leaf-rust-resistance gene, *Lr9*, for marker-assisted selection in bread wheat. *Genome*. 2005;48(5):823-830. DOI: 10.1139/g05-051
- Gupta S.K., Charpe A., Prabhu K.W., Haque O.M.R. Identification and validation of molecular markers linked to the leaf rust resistance gene *Lr19* in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 2006;113(6):1027-1036. DOI: 10.1007/s00122-006-0362-7
- Halpin C. Gene stacking in transgenic plants – the challenge for 21st century plant biotechnology. *Plant Biotechnology Journal*. 2005;3:141-155. doi: 10.1111/j.1467-7652.2004.00113.x
- Helguera M., Khan I.A., Dubcovsky J. Development of PCR markers for wheat leaf rust resistance gene *Lr47*. *Theoretical and Applied Genetics*. 2000;101: 625-631. DOI: 10.1007/s001220051524
- Helguera M., Khan I.A., Kolmer J., Lijavetzky D., Zhong-qi L., Dubcovsky J. PCR assays for the *Lr37–Yr17–Sr38* cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines. *Crop Science*. 2003;43(5):1839-1847. DOI: 10.2135/cropsci2003.1839
- Herrera-Foessel S., Singh R.P., Huerta-Espino J., William M., Rosewarne G., Djurle A., Yuen J. Identification and mapping of *Lr3* and a linked leaf rust resistance gene in durum wheat. *Crop Science*. 2007;47(4):1459-1466. DOI: 10.2135/cropsci2006.10.0663
- Lagudah E.S., McFadden H., Singh R.P., Huerta-Espino J. Bariana H.S., Spielmeier W. Molecular genetic characterization of the *Lr34/Yr18* slow rusting resistance gene region in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 2006;114:21-30. DOI: 10.1007/s00122-006-0406-z
- Mago R., Bariana H.S., Dundas I.S. Development of PCR markers for the selection of wheat stem rust resistance genes *Sr24* and *Sr26* in diverse wheat germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*. 2005;111(3):496-504. DOI: 10.1007/s00122-005-2039-z
- Mago R., Zhang P., Bariana H.S., Verlin U.K., Ellis J.G., Dundas I.S. Development of wheat lines carrying stem rust resistance gene *Sr39* with reduced *Aegilops speltoides* chromatin and simple PCR markers for marker-assisted selection. *Theoretical and Applied Genetics*. 2009;119(8):1441-50. DOI: 10.1007/s00122-009-1146-7
- Marais G.F., Bekker T.A., Eksteen A., McCallum B., Fetch T., Marais A.S. Attempts to remove gametocidal genes co-transferred to common wheat with rust resistance from *Aegilops speltoides*.

- Euphytica* 2010;171(1):71-85. DOI: 10.1007/s10681-009-9996-2
- McCallum B.D., Hiebert C.W., Cloutier S., Bakkeren G., Rosa S.B., Humphreys D.G., Marais J.F., McCartney C.A., Panwar V., Rampitsch C., Saville B.J., Wang X. A review of wheat leaf rust research and the development of resistant cultivars in Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 2016;38(1):1-18. DOI: 10.1080/07060661.2016.1145598
- McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers W.J., Xia X.C., Raupp W.J. Catalogue of gene symbols for wheat: 2020 supplement. *Annual Wheat Newsletter*. 2020;66:109-128. Available from: <https://wheat.pw.usda.gov/ggpages/awn/66/AWNVOL66.pdf> [accessed on 11 May 2021].
- McIntosh R.A., Wellings C.R., Park R.F. Wheat rusts: An atlas of resistance genes. Australia: CSIRO; 1995. DOI: 10.1071/9780643101463
- Meshkova L.V., Rosseeva L.P., Korenyuk E.A., Belan I.A. Dynamics of distribution of the wheat leaf rust pathotypes virulent to the cultivars with *Lr9* gene in Omsk region. *Mycology and Phytopathology*. 2012;46:397-400. [in Russian] (Мешкова Л.В., Россеева Л.П., Коренюк Е.А., Белан И.А. Динамика распространения патотипа возбудителя бурой ржавчины, вирулентного к сортам пшеницы с геном *Lr9* в Омской области. *Микология и фитопатология*. 2012;46:397-400).
- Morgounov A., Ablova L., Babayants O., Babayants I., Bespalova L., Khudokormova Zh., Litvinenko N., Shamanin V., Syukov V. Genetic protection of wheat rusts and development of resistant varieties in Russia and Ukraine. *Euphytica*. 2011;179(2):297-311. DOI: 10.1007/s10681-010-0326-5
- Neu C., Stein N., Keller B. Genetic mapping of the *Lr20-Pml* resistance locus reveals suppressed recombination on chromosome arm 7AL in hexaploid wheat. *Genome*. 2002;45(4):737-744. DOI: 10.1139/g02-040.
- Pestsova E., Ganal M.W., Röder M.S. Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat. *Genome*. 2000;43(4):689-697. DOI: 10.1139/g00-042
- Plotnikova L.Ya., Shtubey T.Yu. Effectiveness of the wheat *Lr22b*, *Lr34*, and *Lr37* genes for adult plant resistance to leaf rust in west Siberia and the cytophysiological basis of their action. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2012;16(1):123-131. [in Russian] (Плотникова Л.Я., Штубей Т.Ю. Эффективность генов возрастной устойчивости пшеницы к бурой ржавчине *Lr22b*, *Lr34*, *Lr37* в Западной Сибири и цитофизиологическая основа их действия. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2012;16(1):123-131). DOI: 10.1134/S2079059713010115.
- Procunier J.D., Townley-Smith T.F., Fox S., Prashar S., Gray M., Kim W.K., Czarnecki E., Dyck P.L. PCR-based RAPD/DGGE markers linked to leaf rust resistance genes *Lr29* and *Lr25* in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Genetics and Breeding*. 1995;49:87-92.
- Qiu J.W., Schürch A.C., Yahiaoui N., Dong L.L., Fan H.J., Zhang Z.J., Keller B., Ling H.Q. Physical mapping and identification of a candidate for the leaf rust resistance gene *Lr1* of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 2007;115:159-168. DOI: 10.1007/s00122-007-0551-z
- Sanin S.S. Epiphytotics of cereal crop diseases: theory and practice: selected works (Epifitotii boleznij zernovykh kultur: teoriya i praktika: izbrannye trudy). Moscow; 2012. [in Russian] (Санин С.С. Эпифитотии болезней зерновых культур: теория и практика: избранные труды. Москва, 2012).
- Schachermayr G., Feuillet C., Keller B. Molecular markers for the detection of the wheat leaf rust resistance gene *Lr10* in diverse genetic backgrounds. *Molecular Breeding*. 1997;3:65-74.
- Serfling A., Krämer I., Lind V., Schliephake E., Ordon F. Diagnostic value of molecular markers for *Lr* genes and characterization of leaf rust resistance of German winter wheat cultivars with regard to the stability of vertical resistance. *European Journal of Plant Pathology*. 2011;130:559-575. DOI: 10.1007/s10658-011-9778-2
- Servin B., Martin O.C.; Mézard M., Hospital F. Toward a theory of marker-assisted gene pyramiding. *Genetics*. 2004;68(1):513-523. doi: 10.1534/genetics.103.023358.
- Seyfarth R., Feuillt C., Schachermayr G., Messmer M., Winzeler M., Keller B. Molecular mapping of the adult plant leaf rust resistance gene *Lr13* in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Genetics and Breeding*. 2000;54(3):193-198.
- Sibikeev S.N., Druzhin A.E., Badaeva E.D., Shishkina A.A., Dragovich A.Y., Gulyaeva E.I., Kroupin P.Y., Karlov G.I., Khat T.M., Divashuk M.G. Comparative analysis of *Agropyron intermedium* (Host) Beauv 6Ag¹ and 6Ag² chromosomes in bread wheat cultivars and lines with wheat-wheatgrass substitutions. *Russian Journal of Genetics*. 2017;53(3):314-324. [in Russian] (Сибикеев С.Н., Бадаева Е.Д., Гульяева Е.И., Дружин А.Е., Шишкина А.А., Драгович А.Ю., Крупин П.Ю., Карлов Г.И., Кхуат Т.М., Дивашук М.Г. Сравнительный анализ 6Ag¹ и 6Ag² хромосом *Agropyron intermedium* (Host) Beauv у сортов и линий мягкой пшеницы с пшенично-пырейными замещениями. *Генетика*. 2017;53(3):98-309). DOI: 10.7868/S0016675817030110
- Sibikeev S.N., Krupnov V.A. Evolution of leaf rust and protection from it in the Volga region. *The Bulletin of Saratov State Agrarian University in honor of N.I. Vavilov*. 2007;(Special edition):92-94. [in Russian] (Сибикеев С.Н., Крупнов В.А. Эволюция листовой ржавчины и защита от нее пшеницы в Поволжье. *Вестник Саратовского государственного университета им. Вавилова*. 2007;(Спецвыпуск):92-94).
- Sibikeev S.N., Markelova T.S., Druzhin A.E., Vedeneeva M.L., Singkh D. Evaluation of a set of introgressive spring bread wheat lines developed for resistance to stem rust race *ug99 + Sr24* (TTKST) at the Agricultural Research Institute for the Southeast Region. *Russian Agricultural Sciences*. 2011;37(2):95-97. [in Russian] (Сибикеев С.Н., Маркелова Т.С., Дружин А.Е., Веденева М.Л., Сингх Д. Оценка набора интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы селекции НИИСХ Юго-Востока на устойчивость к расе стеблевой ржавчине *Ug99+Sr24* (TTKST). *Доклады РАСХН*. 2011;(2):3-5).
- Singh S.K., Sahoo J.P., Swain E. A review on gene stacking in crop plant. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2018;7(4):1862-1865.
- Singh R.P., Trethowan R. Breeding spring bread wheat for irrigated and rainfed production systems of developing world. In: Kang M., Priyadarshan P.M. (eds). *Breeding major food staples*. Ames (Iowa): Blackwell; 2007. p.109-140.
- Sochalova L.P., Likhenko I.E. Evaluation of resistance to brown rust of *Lr*-lines and varieties of wheat, isogenic in genes, under conditions of Novosibirsk region. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK = Achievements of science and technology of AIC*. 2016;30(3):46-50. [in Russian] (Сочалова Л.П., Лихенко И.Е. Оценка устойчивости к бурой ржавчине изогенных по генам *Lr*-линий и сортов пшеницы в условиях новосибирской области. *Достижения науки и техники АПК*. 2016;30(3):46-50).
- State Register for Selection Achievements Admitted for Usage (National List). Vol.1 "Plant varieties" (official publication). Moscow: FGBNU "Rosinformagrotekh"; 2021. [in Russian] (Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т.1. «Сорта растений» (официальное издание). Москва: ФГБНУ «Росинформагротех»; 2021). URL : <https://gossortrf.ru/gosseestr/> [дата обращения: 10.05.2021]
- Taverniers I., Papazova N., Bertheau Y., De Loose M., Holst-Jensen A. Gene stacking in transgenic plants: towards compliance between definitions, terminology, and detection within the EU regulatory framework. *Environmental Biosafety Research. EDP Sciences*. 2008;7(4):197-218. doi: 10.1051/ebr:2008018
- Tomkowiak A., Skowrońska R., Buda A., Kurasiak-Popowska D., Nawracała J., Kowalczewski L., Pluta M., Radzikowska D. Identification of leaf rust resistance genes in selected wheat cultivars and development of multiplex PCR. *Open Life Sciences*. 2019;14(1):327-334. DOI: 10.1515/biol-2019-0036
- Tyrshkin L.G., Kurbanova P.M. Possibility of using molecular markers F1.2245, GWM630, XGWM130 and XBARC352 to identify genes for resistance of common wheat to leaf rust (Vozmozhnost ispolzovaniya molekulyarnykh markerov F1.2245, GWM630, XGWM130 I XBARC352 dlya identifikatsii genov ustoychivosti myagkoy pshenitsy k listovoy rzhavchine). *Izvestiya Sankt-Peterburgskogo Gosudarstvennogo Agrarnogo Universiteta = Bulletin of the St. Petersburg State Agrarian University*. 2009;15:34-38. [in Russian] (Тыршкин Л.Г., Курбанова П.М. Возможность использования молекулярных маркеров F1.2245, GWM630, XGWM130 и XBARC352 для идентификации

-
- генов устойчивости мягкой пшеницы к листовой ржавчине. *Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета*. 2009;15:34-38).
- Vida G., Gál M., Uhrin A., Veisz O., Hasan Syed N., Flavell A.J., Wang Z., Bedò Z. Molecular markers for the identification of resistance genes and marker-assisted selection in breeding wheat for leaf rust resistance. *Euphytica*. 2009;170(1-2):67-76. DOI: 10.1007/s10681-009-9945-0
- Weng Y., Azhaguvel P., Devkota R.N., Rudd J.C. PCR based markers for detection of different sources of 1AL.IRS and 1BL.IRS wheat-rye translocations in wheat background. *Plant Breeding*. 2007;126(5):482-486. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2007.01331.x
- Zhemchuzhina A., Kurkova N. Structure of population of *Puccinia triticina* in various regions of Russia in 2006-2008. *8th International Wheat Conference: Abstracts of oral and poster presentations; 2010 June 01-04; St. Petersburg, Russia*. St. Petersburg: VIR; 2010. p.279.

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНА *Rf1* ПОДСОЛНЕЧНИКА

Анисимова И. Н.^{1*}, Карабицина Ю. И.¹, Алпатьева Н. В.¹, Кузнецова Е. Б.¹,
Титов Н. В.², Лютко А. Ю.², Гаврилова В. А.¹

¹Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г.Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44

²Ленинградский государственный университет имени А. С. Пушкина, 196605 Россия, г.Санкт-Петербург, Пушкин, Петербургское шоссе, д. 10;

* ✉ irina_anisimova@inbox.ru

Актуальность. Современное производство семян подсолнечника основано на возделывании высокопродуктивных гетерозисных гибридов F_1 от скрещиваний линий с цитоплазматической мужской стерильностью (ЦМС) РЕТ1-типа и линий-восстановителей фертильности пыльцы. Донором функционального аллеля ядерного гена *Rf1*, ответственного за восстановление фертильности пыльцы растений F_1 , служит отцовская линия. Выявление носителей рецессивных и доминантных аллелей локуса *Rf1* с помощью диагностических молекулярных маркеров позволяет ускорить процесс селекции материнских и отцовских родительских линий для создания гибридов. **Материалы и методы.** Материалом для исследования служили 75 линий генетической коллекции подсолнечника ВИР различного происхождения, а также гибриды от скрещиваний стерильной линии ВИР 116А с фертильными линиями, различавшимися по типу цитоплазмы (фертильный или стерильный) и наличию молекулярных маркеров, большинство которых сцеплены с локусом *Rf1*. Для валидации маркеров использовали два подхода: 1) анализ ассоциаций между способностью линии к восстановлению фертильности пыльцы, либо к закреплению стерильности, и присутствием в генотипе молекулярных маркеров, а также 2) оценку частоты рекомбинации между локусом *Rf1* и маркерными локусами в четырех расщепляющихся гибридных популяциях F_2 . **Результаты.** Ни один из маркеров не показал 100% эффективности при анализе изученной выборки генотипов. Чаще всего, среди линий, предположительно несущих доминантный аллель *Rf1*, отмечался маркер ORS511. Показатели фертильности пыльцы гибридов F_1 от межлинейных скрещиваний составили 89-99%. Расщепление растений F_2 по признаку фертильность/стерильность пыльцы было близко к теоретически ожидаемому 3:1 при моногенном контроле признака. Маркеры HRG01, HRG02, ORS511 наследовались сцепленно с признаком восстановления фертильности, при этом частота рекомбинации между локусом *Rf1* и маркерами различалась в разных комбинациях скрещиваний. По данным анализа гибридов ВИР 116А × ВИР 740 и ВИР 116А × RIL 130, среди изученных маркерных локусов ближе всех к локусу *Rf1* расположен маркер ORS511 (2,2 и 3,3%, соответственно). В скрещивании ВИР 116А × ВИР 210 частота рекомбинации между локусами *Rf1* и ORS511 составила 7,5%, а в комбинации ВИР116 × ВИР195 – 8,9%. **Заключение.** Для идентификации аллелей гена *Rf1* в коллекции генетических ресурсов подсолнечника и для маркер-опосредованного отбора в расщепляющихся гибридных популяциях, полученных с участием линий генетической коллекции ВИР, наиболее эффективны маркеры ORS511, HRG01 и HRG02.

Ключевые слова: *Helianthus annuus*, ЦМС РЕТ1, восстановление фертильности пыльцы, маркер-опосредованный отбор, наследование, рекомбинация

Для цитирования:

Анисимова И.Н., Карабицина Ю.И., Алпатьева Н.В., Кузнецова Е.Б., Титов Н.В., Лютко А.Ю., Гаврилова В.А.

Диагностическая ценность молекулярных маркеров гена *Rf1* подсолнечника. *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(2):28-37.

DOI: 10.30901/2658-6266-2021-2-03

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/10.30901/2658-6266-2021-2-03> **Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы. Все авторы одобрили рукопись. Конфликт интересов отсутствует.**


Благодарности: Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования России в рамках соглашения № 075-15-2020-911 от 16.11.2020 о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

DIAGNOSTIC VALUE OF *Rf1* GENE MOLECULAR MARKERS IN SUNFLOWER

Anisimova I. N.^{1*}, Karabitsina Yu. I.¹, Alpatieva N. V.¹, Kusnetsova E. B.¹, Titov N. V.², Lyutko A. Yu.², Gavrilova V. A.¹

¹N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia

²Pushkin Leningrad State University, 10 Petersburgskoye Shosse, Pushkin, St. Petersburg 196605, Russia;

*  irina_anisimova@inbox.ru

Background. Modern production of sunflower seeds is currently based on the cultivation of high-yielding heterotic F₁ hybrids from cross-breeding of lines with cytoplasmic male sterility (CMS) of PET1-type and fertility restorer lines. The paternal parent serves as a donor of the nuclear *Rf1* gene functional allele, which is responsible for pollen fertility restoration in F₁ plants. The detection of carriers of the *Rf1* locus recessive and dominant alleles using diagnostic molecular markers accelerates breeding of female and male parental lines for creating hybrids. **Materials and methods.** The material for the study included 75 lines of various origins from the VIR sunflower genetic collection as well as hybrids from crosses of VIR 116A sterile line with fertile lines differing in the type of cytoplasm (fertile or sterile) and the presence of molecular markers, most of which were linked to the *Rf1* locus. For marker validation, two different approaches were used: either by analyzing associations between the ability of a line to restore pollen fertility and the presence of molecular markers in its genotype, or by estimating recombination frequency between the *Rf1* locus and marker loci in four segregating hybrid populations. **Results.** According to the obtained results, no markers demonstrated 100% efficiency in the analysis of the sample of genotypes. The ORS511 marker was most frequently observed among the lines presumably carrying the dominant allele *Rf1*. Pollen fertility of F₁ hybrids from interline crossings was 89-99%. The segregation for fertility/sterility in F₂ fitted the theoretical ratio of 3:1 expected in case of the monogenic control of the trait. The markers HRG01, HRG02 and ORS511 were linked to the fertility restoration trait, with recombination rates between *Rf1* locus and markers varying in different cross combinations. The analysis of VIR 116A × VIR 740 and VIR 116A × RIL 130 hybrids showed that among the marker loci studied, the ORS511 was closest to the *Rf1* locus (*Rf1* (recombination frequency of 2.2 and 3.3%, respectively). The recombination rate between the *Rf1* and ORS511 loci equaled 7.5% in the cross VIR 116A × VIR 210 and 8.9% in VIR 116 × VIR 195. **Conclusion.** The markers ORS511, HRG01 and HRG02 are the most efficient for the identification of alleles of the *Rf1* gene and for the marker assisted selection in hybrid populations produced involving sunflower lines from the VIR collection.

Key words: *Helianthus annuus*, CMS PET1, pollen fertility restoration, marker assisted selection, inheritance, recombination

For citation:

Anisimova I.N., Karabitsina Yu.I., Alpatieva N.V., Kusnetsova E.B., Titov N.V., Lyutko A.Yu., Gavrilova V.A. Diagnostic value of *Rf1* gene molecular markers in sunflower. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(2):28-37. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-2-03

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/10.30901/2658-6266-2021-2-03> **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:

Anisimova I.N. <https://orcid.org/0000-0003-0474-8860>

Karabitsina Yu.I. <https://orcid.org/0000-0002-8384-5134>

Alpatieva N.V. <https://orcid.org/0000-0002-5531-2728>

Kusnetsova E.B. <https://orcid.org/0000-0002-9804-1286>

Gavrilova V.A. <https://orcid.org/0000-0002-8110-9168>

УДК 575.13:633.85

Поступила в редакцию: 10.05.2021

Принята к публикации: 23.06.2021

Acknowledgments: The work was carried out with the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in the framework of Agreement No. № 075-15-2020-911 of 16.11.2020 on providing a grant in the form of subsidies from the federal budget for the implementation of state support for the creation and development of the world-class scientific center “Agrotechnologies for the future”.

Введение

Подсолнечник (*Helianthus annuus* L.) – одна из ведущих масличных культур в России и в ряде стран мира. Основное направление современной селекции подсолнечника – создание высокопродуктивных гетерозисных гибридов на основе цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС). В семеноводстве гибридов используется преимущественно ЦМС РЕТ1-типа, полученная Леклерком (Leclercq, 1969) в результате межвидового скрещивания дикого однолетнего вида *H. petiolaris* Nutt. с культурным подсолнечником *H. annuus*. Для восстановления фертильности пыльцы при ЦМС РЕТ1 в генотипе гибрида должен присутствовать ген *Rf1* (от англ. *Restoration of fertility*), который находится в группе сцепления 13. Его донором служит отцовская линия. Поиск генов-кандидатов в локусе *Rf1* у подсолнечника проводили методом полногеномного поиска ассоциаций GWAS (от англ. genome-wide association studies), основанным на анализе массивов данных однонуклеотидных полиморфизмов SNP. В работах Оуэнса с соавторами (Owens et al., 2018) и Горюнова с соавторами (Goryunov et al., 2019) выявлены 22 гена-кандидата в локусе *Rf1*, из которых 21 – кодирует PPR-белки и один – альдегиддегидрогеназу. Хорн с соавторами (Horn et al., 2019) идентифицировали 9 генов-кандидатов в локусе *Rf1*, три из которых (кодирующие PPR-белки) считаются самыми перспективными. Однако до сих пор сам ген *Rf1* не клонирован, продукт гена не идентифицирован, его функция не определена.

Тестирование отцовских линий в отношении восстановительной способности, которую определяет наличие в генотипе доминантного функционального аллеля гена *Rf1*, – длительный и трудоемкий процесс, включающий постановку скрещивания со стерильной линией-тестером и последующую оценку проявления признака у гибрида F₁. Этот процесс может быть значительно ускорен при использовании молекулярных маркеров. В гибридной селекции подсолнечника широко используется способ выделения материнских и отцовских линий из популяций растений F₂ коммерческого гибрида на основе ЦМС (Gavrilova, Rozhkova, 2005; Carvalho, Toledo, 2008). Ранняя диагностика носителей рецессивных и доминантных аллелей локуса *Rf1* в гибридной популяции весьма актуальна, поскольку позволяет значительно сократить время и затраты при создании материнских и отцовских линий для получения гибридов.

Диагностическая ценность, иными словами эффективность, информативность или надежность молекулярного маркера, используемого для идентификации генотипов, несущих ген интереса, определяется многими факторами. Наиболее высокой диагностической ценностью обладают функциональные (аллель-специфичные) маркеры, разработанные на основе сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей аллельных вариантов гена-кан-

дидата (Leonova, 2013). Однако к настоящему времени такие маркеры разработаны лишь для небольшого числа генов *Rf*, в частности, *Rf0* рапса (Hu et al., 2008; Afjani et al., 2019), *Rf2* хлопчатника (Feng et al., 2021), *Rs-Rf1* редиса (Sun et al., 2012).

Альтернативой указанному подходу является поиск маркеров, сцепленно наследуемых с геном *Rf1*. К их числу относятся SSR-маркеры, отбираемые на основе анализа генетической карты, либо маркеры, источником которых являются, например, сцепленно наследуемые RAPD-фрагменты. Чем ближе друг к другу находятся ген и молекулярный маркер на генетической карте, тем выше вероятность того, что в результате рекомбинации в мейозе у гибрида F₁ ген и маркерный фрагмент попадут в одну гамету и будут одновременно переданы потомству. Это значительно облегчает процесс отбора желаемых генотипов в F₂.

Как правило, при поиске молекулярного маркера используют ограниченное число генотипов, а силу сцепления с маркируемым геном определяют при анализе конкретной расщепляющейся популяции. В этой связи важным этапом работы по поиску молекулярного маркера является его валидация. Существуют два подхода для определения диагностической ценности молекулярного маркера. Наиболее широко используемый подход – апробация маркера с использованием большого количества генотипов. Другой подход заключается в валидации маркеров, разработанных для одной гибридной комбинации, в процессе анализа других гибридных популяций.

В литературе опубликован ряд молекулярных маркеров, расположенных в той же группе сцепления, что и локус *Rf1*: микросателлитные ORS224, ORS317, ORS511, ORS630, ORS799, ORS1030 (Tang et al., 2002), TRAP-маркеры и STS-маркер STS115 (Yue et al., 2010), SCAR-маркеры HRG01 и HRG02 (Horn et al., 2003). Однако оценка их диагностической ценности была выполнена на ограниченном числе генотипов и в единичных гибридных комбинациях.

Во Всероссийском институте генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова создана генетическая коллекция линий подсолнечника, в составе которой – линии с ЦМС РЕТ1, закрепители стерильности и восстановители фертильности пыльцы. Наличие признака восстановления фертильности пыльцы у большинства линий-восстановителей проверено методом парных скрещиваний со стерильными тестерными линиями и путем анализа потомства F₁ и F₂ (Gavrilova, Rozhkova, 2005; Gavrilova et al., 2014). Генотипы ряда линий по локусу *Rf1* пока не известны, что ограничивает перспективы их использования в гетерозисной селекции. Цель настоящего исследования – выяснение диагностической ценности молекулярных маркеров гена *Rf1* у линий коллекции подсолнечника ВИР, с использованием комплексного подхода, сочетающего методы ассоциативного и гибридологического анализов.

Материал и методы

Изученный материал включал 75 различившихся по происхождению линий генетической коллекции подсолнечника ВИР, в числе которых: стерильные линии с ЦМС, закрепители стерильности и восстановители фертильности пыльцы. Линии были отобраны из расширенной выборки генотипов, предварительно проверенных на однородность с использованием различных молекулярных маркеров.

ДНК выделяли из верхних листьев пятидневных полевых растений с помощью модифицированного СТАВ-метода (Li et al., 2007; Anisimova et al., 2018). Оценивали полиморфизм фрагментов, амплифицированных с помощью восьми пар праймеров, специфичных для маркера orfH522 митохондриального генома, а также для локализованных в группе сцепления 13 двух локусов, *Rfl* (восстановление фертильности пыльцы при ЦМС РЕТ1) и *P15/P18* (устойчивость к мучнистой росе) (табл. 1).

Таблица 1. Характеристика использованных праймеров

Table 1. Characteristics of the used primers

Локус/ Locus	Маркер/ Marker	Последовательность/ Sequence	Размер ампликона, пн/ Amplicon size, bp	Источник/ Reference
<i>Rfl</i>	HRG02	F- AAACGTGGGAGAGAGGTGG R- AAACGTGGGCTGAAGAАСТА	740	Horn et al., 2003
<i>Rfl</i>	HRG01	F- TATGCATAATTAGTTATACCC R- ACATAAGGATTATGTACGGG	454	Horn et al., 2003
<i>Rfl</i>	STS115	F- CGAАСТААТСАТСАТСААСС R- TCGGCTCTTATGTATGTTСАС	115	Yue et al., 2010
<i>Rfl</i>	ORS224	F- AACCAАAGCGCTGAAGAAATC R- TGGACTAАСТACCAGAAGCTAC	136	Tang et al., 2002
<i>Rfl</i>	ORS511	F- TGGCTCAGATTAAGTTCACACAG R- CGGGTTGCGAGTAAСAGGTA	156	Tang et al., 2002
<i>Rfl</i>	ORS799	F- ACTCCCTCCCATTCTCGTCT R- TCCAGCAAGTCAGCAACAAC R- CAAGGGCAGAGAGTTTCCAC	143	Tang et al., 2002
<i>P15/P18</i>	HA4011	F- ACTTCTACCCTCCCCTCTT R- CTGTACACGTGCTGCTTТAG	200, 240	Sahin et al., 2018
В геноме митохондрий	orfH522	F- TGCCTCAACTGGATAAATTCAC R- ACCGTTCTCTCACGAGTTGAAG	516	Schnabel et al., 2008

Реакционную смесь объемом 25 мкл готовили по следующему протоколу: 1,5 мкл раствора ДНК концентрации 100 нг/мкл, 2,4 мкл 2,5 мМ dNTP, 2,5 мкл 10 реакционного буфера, 1,25 мкл 50 мМ MgCl₂, по 0,5 мкл прямого и обратного праймеров (10 пМ/мкл), 0,4 мкл Taq ДНК-полимеразы (5 е.а./мкл), 0,06 мкл бычьего сывороточного альбумина (BSA, 20 мг/мкл) и 15,89 мкл дистиллята двойной перегонки (ddH₂O). Амплификацию осуществляли при условиях, рекомендованных разработчиками праймеров. Продукты амплификации разделяли в 1,5 % агарозном геле.

Для статистической обработки результатов расщепления применяли метод хи-квадрат (χ^2). Для определения частоты рекомбинации по данным анализа F₂ использовали формулы Рокицкого (Rokitskii, 1974).

С целью валидации маркеров оценивали также характер их совместного наследования с признаком восстановления фертильности в F₂ от скрещиваний стериль-

ной линии-тестера ВИР 116А (ЦМС РЕТ1) с фертильными линиями ВИР 195, ВИР 210, ВИР 740, RIL 130, различающимися по типу цитоплазмы (стерильный или фертильный) и наличию маркеров гена *Rfl*. Скрещивания были выполнены в 2011 году на Кубанской опытной станции – филиале ВИР. Гибриды F₁ выращены в 2013 и 2016 годах, гибриды F₂ – в 2015 и 2020 годах на опытном поле НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР». Для получения семян на F₂ перед началом цветения отдельные соцветия были изолированы с помощью изоляторов, выполненных из спанбонда.

Фертильность пыльцы растений F₁ и F₂ оценивали в полевых условиях по наличию нормально развитых пыльников, содержавших пыльцу, и цитологическим методом. Долю фертильных пыльцевых зерен (ПЗ) подсчитывали по методике Навашина (Navashin, 1951) с изменениями, на глицерин-желатиновых препаратах (Voronova, Gavrilova, 2019). Цитологический ана-

лиз выполнен с помощью микроскопа Zeiss AxioPlan 2 Imaging с цифровой фотокамерой AxioVision и программным обеспечением AxioVision 4.8. Для определения содержания фертильных пыльцевых зерен просматривали не менее 10 полей зрения при 20-кратном увеличении.

Результаты и обсуждение

У 75 линий генетической коллекции подсолнечника ВИР оценили связь между наличием молекулярных маркеров HRG01, HRG02, STS115, ORS224, ORS511, ORS799 и HA4011, находящихся в группе сцепления 13, и наличием в генотипе линии доминантного аллеля в локусе *Rfl* (табл. 2). В зависимости от способности к супрессии фенотипа ЦМС изученные линии были классифицированы как стерильные, закрепители стерильности и восстановители фертильности. Тип цитоплазмы определяли с помощью митохондриального маркера *orfH522*: наличие фрагмента размером 516 пн указывало на присутствие аберрантного митохондриального гена, ассоциированного с типом стерильности PET1 (цитоплазма S); его отсутствие указывало на то, что тип цитоплазмы был фертильным (цитоплазма N). Стерильный тип цитоплазмы, диагностированный с помощью маркера *orfH522*, свидетельствовал о наличии в генотипе фертильной линии доминантного аллеля *Rfl*. Для линий с фертильным типом

цитоплазмы способность восстанавливать фертильность или закреплять стерильность определена в тест-скрещиваниях со стерильным тестером (Anisimova et al., 2014).

В таблице 2 представлены результаты анализа ассоциаций между наличием у изученных линий молекулярных маркеров гена *Rfl* и их способностью закреплять мужскую стерильность либо восстанавливать фертильность пыльцы при скрещивании с линией ЦМС PET1. Полученные результаты показали, что ни один из семи использованных маркеров не обладал 100%-ной эффективностью при анализе изученной выборки генотипов, то есть его присутствие (или отсутствие) не всегда однозначно свидетельствовало о наличии (или отсутствии) в генотипе линии функционального аллеля в локусе *Rfl*. Более эффективным оказался митохондриальный маркер *orfH522*: он позволил диагностировать стерильный тип цитоплазмы и практически всегда указывал на наличие доминантного аллеля *Rfl*, у линий, восстанавливающих фертильность пыльцы в поле. Однако у линий с фертильной цитоплазмой маркер *orfH522* отсутствовал, поэтому на наличие функционального аллеля *Rfl* могли указывать другие маркеры, сцепленные с геном *Rfl*. Чаще всего среди линий с доминантным аллелем *Rfl* встречался микросателлитный маркер ORS511, который не был отмечен лишь у пяти из 67 линий-восстановителей фертильности пыльцы с цитоплазмами N и S (см. табл. 2).

Таблица 2. Встречаемость молекулярных маркеров, локализованных в группе сцепления 13, среди линий коллекции подсолнечника, различающихся по способности к супрессии фенотипа ЦМС PET1

Table 2. Occurrence of molecular markers, localized in linkage group 13, among sunflower collection lines differing in their ability to suppress the PET1-cms phenotype

Группа линий/ Line group	Число линий с молекулярным маркером (+) и без него (-)/ Number of lines with (+) and without (-) a molecular marker														
	STS115		HRG02		HRG01		ORS224		ORS511		ORS799		HA4011		
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	240 пн/bp	200 пн/bp	-
Стерильные (ЦМС PET1-типа) – <i>rflrfl</i>	1	2	0	3	0	3	0	3	0	3	2	1	3	0	0
Закрепители стерильности (цитоплазма N) – <i>rflrfl</i>	4	1	3	2	2	3	1	4	3	2	2	3	2	3	0
Восстановители фертильности (цитоплазма S PET1-типа) – <i>Rf1Rf1</i>	49	12	48	13	41	20	40	21	58	3	35	26	30	24	7
Восстановители фертильности (цитоплазма N) – <i>Rf1Rf1</i>	5	1	4	2	4	2	3	3	4	2	0	6	1	5	0

Число изученных в работе стерильных линий с ЦМС РЕТ1 (линий А) и фертильных линий-закрепителей стерильности (в эту группу вошли как фертильные аналоги стерильных линий, так и линии, показавшие закрепительную способность при скрещиваниях со стерильным тестером), было невелико. Ранее, однако, отсутствие маркеров HRG01 и HRG02 у носителей рецессивного аллеля *rfl* было продемонстрировано нами на расширенной выборке генотипов, включавшей 7 А-линий с ЦМС РЕТ1-типа (Anisimova et al., 2009).

Нами не обнаружено четкой ассоциации между признаком восстановления фертильности пыльцы и наличием трех микросателлитных маркеров ORS224, ORS799, HA4011, последний из которых сцеплен с находящимся в той же группе сцепления локусом *P15/P18* и детерминирующим устойчивость подсолнечника к большому чис-

лу рас возбудителя ложной мучнистой росы *Plasmopara halstedii* (Farl) Berl. & De Toni (см. табл. 2).

При создании материнских и отцовских родительских линий селекционеры широко используют метод «разложения» коммерческих гибридов на линии с целью отбора рекомбинантных генотипов. В этой связи особенно актуальны данные о характере совместного наследования признака восстановления фертильности пыльцы и молекулярного маркера при межлинейных скрещиваниях. Материнской линией в опытах служила стерильная линия ВИР116А, отцовскими – линии ВИР 195, ВИР 210, ВИР 740, RIL 130, различающиеся по типу цитоплазмы (стерильный у ВИР 116А, ВИР 195, ВИР 210, RIL 130, фертильный – у ВИР 740) и сочетаниям маркеров STS115, HRG01, HRG02, ORS511, HA4011 (табл. 3).

Таблица 3. Характеристика родительских линий, использованных в скрещиваниях

Table 3. Characteristics of parental lines used in crossings

Линия/ Line	Номер каталога ВИР/ VIR Catalogue number	Происхождение/ Origin	Тип цитоплазмы* Type of cytoplasm*	Наличие и размер (пн) маркерных фрагментов/ Presence and size of marker fragments (bp)				
				STS115	HRG01	HRG02	ORS511	HA4011
ВИР 116А	3455	Вымпел, Россия	S	-	-	-	-	240
ВИР 195	3285	Россия	S	-	-	-	159	-
ВИР 210	3292	Россия	S	-	-	-	214	-
ВИР 740	3528	ВИР 113 × <i>Rf</i> , <i>Pl</i> , Россия	N	115	454	740	158	200
RIL 130	3599	83HR4 × RHA 345 Франция	S	115	454	740	159	200

*S – стерильный (РЕТ1)/ sterile (PET1), N – фертильный/ fertile

Цитологический анализ содержимого пыльников показал, что у всех отцовских форм доля окрашенных (фертильных) ПЗ превышала 90%. Самый высокий уровень частоты фертильных ПЗ (97%) отмечен у линии ВИР 740, зарегистрированной в ВИР как донор гена *Rf1*.

Растения гибридов первого поколения во всех четырех комбинациях скрещиваний (ВИР 116А × ВИР 195, ВИР 116А × ВИР 210, ВИР 116А × ВИР 740 и ВИР 116А × RIL 130) были выравнены по морфологическим признакам, фенотипически соответствовали материнскому типу и имели следующие признаки: ветвление отсутствовало (отцовские формы, использованные в скрещиваниях между линиями ВИР 116А × ВИР 740 и ВИР 116А × RIL 130, были ветвистыми), высота растений составляла 2 м и выше, присутствовала лишь одна крупная центральная корзинка. Показатели фертильности пыльцы гибридов F₁ составили от 89% (ВИР 116А × ВИР 740) до 98% (ВИР 116А × RIL 130).

Расщепление растений F₂ по признаку фертильность/стерильность пыльцы соответствовало теоретически ожидаемому 3:1 при моногенном контроле признака. Поэтому предположили, что в соответствии с общепринятой гипотезой, в контроле признака восстановления фертильности пыльцы в изученных комбинациях скрещиваний принимал участие ген *Rf1*. Фертильные растения имели хорошо развитые пыльники с большим количеством пыльцы (рисунок, а, б, у стерильных растений пыльники были недоразвитыми, пыльца в них отсутствовала (рисунок, в, з)).

Каждое растение расщепляющихся популяций F₂ было генотипировано с помощью молекулярных маркеров STS115, HRG01, HRG02, ORS511 и HA4011. Результаты анализа совместного наследования признака восстановления фертильности пыльцы и маркеров STS115, HRG01, HRG02, ORS511 представлены в таблице 4. Все маркеры наследовались сцепленно с признаком восста-

новления фертильности (предположительно, локус *Rfl*), при этом частота рекомбинации между признаком и маркером в разных комбинациях скрещиваний была различной. В двух комбинациях – ВИР 116А × ВИР 740 и ВИР 116А × RIL 130 – оценивали расщепление по всем анализируемым маркерам, в комбинациях ВИР 116А × ВИР 210 и ВИР 116А × ВИР 195 – по ORS511 и HA4011, поскольку маркеры STS115, HRG01, HRG02 у отцовских линий ВИР 195 и ВИР 210 отсутствовали.

Результаты оценки частоты рекомбинации в скрещиваниях ВИР 116А × ВИР 740 и ВИР 116А × RIL 130 показали, что маркер STS115 сцеплен с локусом *Rfl* слабее всех других изученных маркеров (частоты рекомбинации 35,4% и 31,1%), что маловероятно и противоречит дан-

ным ЮЭ с соавторами (Yue et al., 2010), свидетельствующим об очень тесном сцеплении данного маркера с локусом *Rfl* (0,4 сМ). В то же время для маркера ORS511 отмечено довольно тесное сцепление с признаком (частоты рекомбинации 2,2% и 3,3%). Расстояние между предполагаемым локусом *Rfl* и маркером ORS511 в двух комбинациях скрещиваний оказалось немного меньше значения 3,7 сМ, полученного ЮЭ с соавторами (Yue et al., 2010) при анализе скрещивания cmsHA441 × 2-6-5-1. В скрещиваниях ВИР 116А × ВИР 210 и ВИР 116А × ВИР 195 частоты рекомбинации между локусами *Rfl* и ORS511 оказались вдвое больше и составили соответственно 7,5% для ВИР 116А × ВИР 210, а в комбинации ВИР116 × ВИР195 – 8,9%.

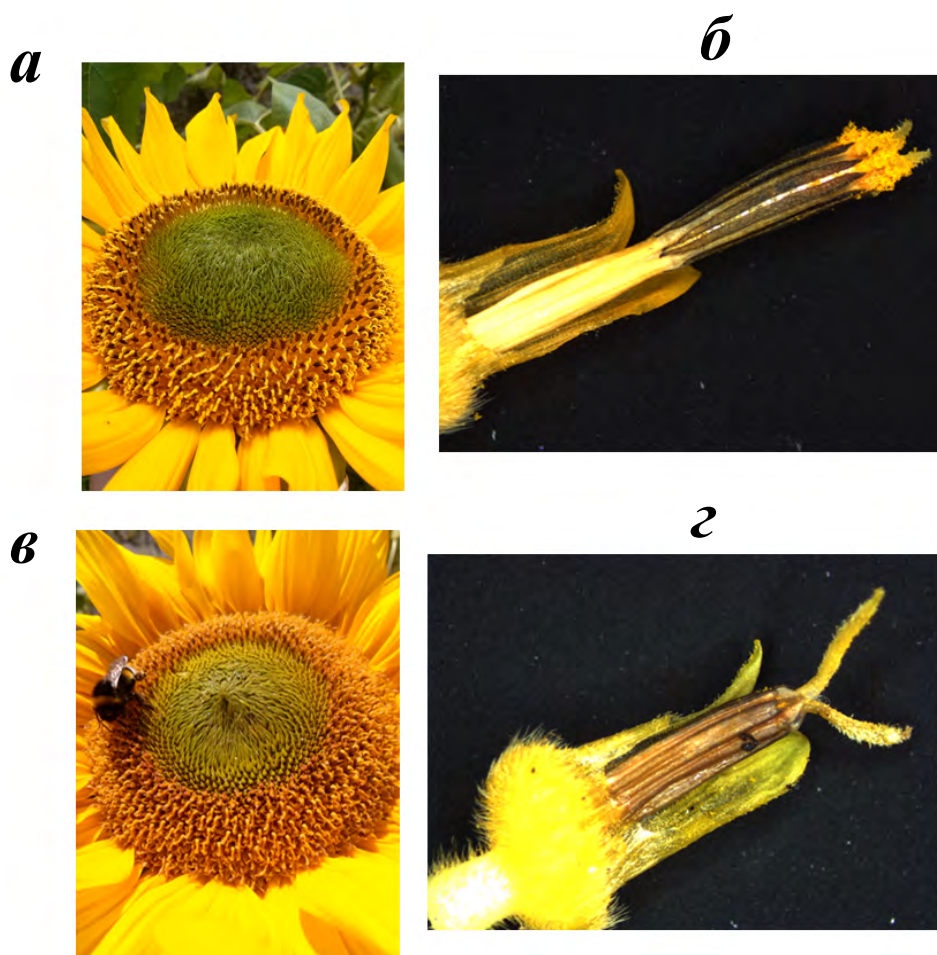


Рисунок. Соцветия и фрагменты трубчатых цветков с пыльником фертильного (а, б) и стерильного (в, г) растений

Figure. Inflorescences and fragments of tubular flowers with the anther of fertile (a, б) and sterile (в, г) plants

Частоты рекомбинации между локусом *Rfl* и маркерами HRG01 и HRG02 оказались выше опубликованных в литературе. Согласно оценкам, полученным Хорн с сотрудниками (Horn et al., 2003) при анализе результатов скрещивания RHA 325 × HA 342, расстояние между локусом *Rfl* и маркерами HRG01 и HRG02 составляет 0,8 сМ и 2 сМ (Horn et al., 2003). В наших экспериментах частота рекомбинации между локусом *Rfl* и маркерами HRG01 и HRG02 составила 6,7% и 5,1%, соответственно, в скрещивании ВИР 116А × ВИР 740, а в скрещивании

ВИР 116А × RIL 130 – 4,1% и 4,2%.

Таким образом, нами и другими исследователями при анализе различных комбинаций скрещиваний получены близкие, но неидентичные показатели силы сцепления признака восстановления фертильности (локус *Rfl*) с молекулярными маркерами. В наших экспериментах в качестве материнской формы использовался один и тот же тестер, поэтому наблюдаемые отличия в частоте рекомбинации можно объяснить влиянием генотипа отцовского родителя.

Таблица 4. Расщепление по признаку восстановления фертильности пыльцы (локусу *Rfl*) и наличию маркеров гена *Rfl* во втором поколении гибридов ВИР 116А × ВИР 740 (1), ВИР 116А × RIL 130 (2), ВИР 116А × ВИР 210 (3) и ВИР 116А × ВИР 195 (4)/

Table 4. Segregation for pollen fertility restoration (*Rfl* locus) and the presence of the *Rfl* gene marker in the second generation of the hybrids VIR 116A × VIR 740 (1), VIR 116A × RIL 130 (2), VIR 116A × VIR 210 (3) and VIR 116A × VIR 195 (4)

Локусы/ Loci	Комбинация/ Combination	Всего растений/ Total plants	Фенотипические классы F ₂ Phenotype classes F ₂				χ ² для фактического расщепления при ожидаемом 9:3:3:1 (df=3, p < 0,05)/ χ ² for the actual segregation vs. the expected 9:3:3:1	r, %
			F/M(+)	F/M(-)	S/M(+)	S/M(-)		
<i>Rfl</i> , STS115	1	133	90	7	16	20	35,6	35,4
	2	123	91	2	24	6	26,5	31,1
<i>Rfl</i> , HRG01	1	133	91	6	3	33	110,5	6,7
	2	123	89	4	1	29	101,6	4,1
<i>Rfl</i> , HRG02	1	133	91	6	1	35	126,5	5,1
	2	123	91	2	3	27	92,1	4,2
<i>Rfl</i> , ORS511	1	133	95	2	1	35	135,2	2,2
	2	123	91	2	2	28	99,0	3,3
	3	101	75	1	6	19	57,2	7,5
	4	239	177	11	8	42	117,62	8,9

Примечания: F/M(+) – фертильное, с маркером; F/M(-) – фертильное, без маркера; S/M(+) – стерильное, с маркером; S/M(-) – стерильное, без маркера; r – частота рекомбинации

Notes: F/M(+) – fertile, with the marker; F/M(-) – fertile, without the marker; S/M(+) – sterile, with the marker; S/M(-) – sterile, without the marker; r – frequency of recombination

Признак восстановления фертильности пыльцы наследовался сцепленно с STS-маркером HA4011 сложного локуса *P15/P18*. Согласно данным литературы, генетическое расстояние между локусами *Rfl* и *P15/P18* составляет порядка 26 сМ (Bulos et al., 2013). Частота рекомбинации между маркером HA4011 и локусом *Rfl* в двух популяциях F₂: ВИР 116А × ВИР 740 и ВИР 116А × RIL 130 составила 26% и 16,4%, соответственно. Микросателлитный маркер HA4011 можно использовать в качестве дополнительного к маркерам ORS511, HRG01 и HRG02 для идентификации генотипов

подсолнечника, несущих функциональный аллель гена восстановления фертильности пыльцы *Rfl*. Это актуально для линий, у которых данные маркеры отсутствуют. Маркер HA4011 – кодоминантен, и с его помощью можно выявлять гомозиготные по локусу *Rfl* генотипы в расщепляющихся гибридных популяциях F₂.

Первые данные о диагностической ценности SCAR-маркеров HRG01 и HRG02 получили Хорн с соавторами (Horn et al., 2003). Авторы проанализировали распределение маркеров HRG01 и HRG02 среди 9 закрепителей стерильности и 11 восстановителей фер-

тильности и не обнаружили их у двух линий-восстановителей. Маркин с соавторами (Markin et al., 2013) оценивали диагностическую ценность 9 молекулярных маркеров (6 SSR-маркеров, наиболее близко расположенных к локусу *Rf1* на генетической карте, маркера STS115 и SCAR-маркеров HRG01 и HRG02) на селекционном материале, созданном на Донской опытной станции им. Л.А. Жданова Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур имени В.С. Пустовойта (ВНИИМК). Этот материал был представлен 17 линиями ЦМС и 29 линиями-восстановителями и был сравнительно близкородственным. Согласно полученным данным, более информативными оказались три из девяти изученных маркеров – SCAR-маркеры HRG01 и HRG02, и маркер STS115, тогда как ORS511, по мнению исследователей, был неинформативным. На этой же выборке линий авторы апробировали мультиплексную систему, разработанную на основе маркеров HRG01 и HRG02 и orfH522 (Markin et al., 2017).

Линии с ЦМС, восстановители и закрепители стерильности из генетической коллекции ВИР, были маркированы в работе Анисимовой с соавторами (Anisimova et al., 2011) с помощью SCAR-маркеров HRG01 и HRG02, а также STS-маркера митохондриальной ДНК orfH522. Авторы показали, что SCAR-маркеры HRG01 и HRG02 гена *Rf1* отсутствуют у ряда линий-восстановителей из коллекции ВИР, и о присутствии в генотипе гена *Rf1* можно надежно судить по наличию митохондриального маркера orfH522. Позднее маркеры orfH522 и HRG01, последний из которых разработан Маркиным (Markin et al., 2017) на основе последовательности фрагмента HRG01, а также HRG02 были апробированы Челюстниковой с соавторами (Chelyustnikova et al., 2017). Авторы использовали перечисленные маркеры при анализе выборки инбредных линий селекции ВНИИМК и рекомендовали их для оценки аллельного состояния гена *Rf1* в селекционной и семеноводческой практике. В результате проведенного нами исследования показано, что наибольшую диагностическую ценность имеют маркеры ORS511, HRG01 и HRG02 для идентификации генетических ресурсов подсолнечника по гену восстановления фертильности пыльцы *Rf1*.

Заключение

Впервые на обширном генетическом материале, включавшем 75 линий коллекции ВИР, выполнена оценка диагностической ценности молекулярных маркеров STS115, HRG01, HRG02, ORS511 и HA4011, локализованных в группе сцепления 13 *Helianthus annuus*. Для валидации маркеров использовали два подхода – анализ ассоциаций между способностью линии к восстановлению фертильности пыльцы при цитоплазматической мужской стерильности РЕТ1-типа, либо к закреплению стерильности, и присутствием в генотипе молекулярных маркеров STS115, HRG01, HRG02, ORS511, HA4011, а также гибри-

дологический анализ четырех расщепляющихся гибридных популяций F_2 с оценкой частот рекомбинации между локусом *Rf1* и молекулярными маркерами. В качестве наиболее эффективных для идентификации в коллекции генетических ресурсов подсолнечника и для маркер-опосредованного отбора из расщепляющихся гибридных популяций предложены маркеры ORS511, HRG01 и HRG02.

References/Литература

- Afjani J.A., Najafabadi M.S., Mirfakhraei R.G. Gene-based marker to differentiate among B, A, and R lines in hybrid production of rapeseed Ogura system. *Iranian Journal of Biotechnology*. 2019;17(3):50-54. DOI: 10.29252/ijb.1870
- Anisimova I.N., Alpatyeva N.V., Abdullaev R.A., Karabitsina Y.I., Kuznetsova E.B. Screening of plant genetic resources with the use of DNA markers: basic principles, DNA isolation, PCR setup, agarose gel electrophoresis: (guidelines). E.E. Radchenko (ed.). St. Petersburg: VIR; 2018. [in Russian] (Анисимова И.Н., Алпатьева Н.В., Абдуллаев Р.А., Карабицина Ю.И., Кузнецова Е.Б. Скрининг генетических ресурсов растений с использованием ДНК-маркеров: основные принципы, выделение ДНК, постановка ПЦР, электрофорез в агарозном геле: (методические указания) / под ред. Е.Е. Радченко. Санкт-Петербург: ВИР; 2018). DOI: 10.30901/978-5-905954-81-8
- Anisimova I.N., Gavrilova V.A., Rozhkova, Port A.I., Timofeeva G.I., Duka M.V. Genetic diversity of sources of sunflower pollen fertility restorer genes. *Russian Agricultural Sciences*. 2011;37:192-196. DOI: 10.3103/S1068367411030025
- Anisimova I.N., Gavrilova V.A., Alpatyeva N.V., Kuznetsova E.B., Karabitsina Y.I., Rozhkova V.T. Sunflower collection in the studies of pollen fertility restoration genetic mechanisms. *Proceedings of Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2014;175(4):72-82. [in Russian] (Анисимова И.Н., Гаврилова В.А., Алпатьева Н.В., Кузнецова Е.Б., Карабицина Ю.И., Рожкова В.Т. Коллекция подсолнечника в исследованиях генетических механизмов восстановления фертильности пыльцы. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2014;175(4):72-82).
- Anisimova I.N., Gavrilova V.A., Rozhkova V.T., Timofeeva G.I., Tikhonova M.A. Molecular markers in identification of sunflower pollen fertility restorer genes. *Russian Agricultural Sciences*. 2009;35:367-370. DOI: 10.3103/S1068367409060020
- Bulos M., Ramos M.L., Altieri E., Sala C.A. Molecular mapping of a sunflower rust resistance gene from HAR6. *Breeding Science*. 2013;63(1):141-146. DOI: 10.1270/jsbbs.63.141
- Chelyustnikova T.A., Guchetl S.Z., Antonova T.S. Usage of molecular markers for identification of CMS-*Rf* system in parental lines of sunflower hybrids. *Oil Crops*. 2017;4(172):3-9. [in Russian] (Челюстникова Т.А., Гучетль С.З., Антонова Т.С. Применение молекулярных маркеров для идентификации ЦМС-*Rf* системы в родительских линиях гибридов подсолнечника. *Масличные культуры*. 2017;4(172):3-9).
- Carvalho C.G.P., Toledo J.F.F. Extracting female inbred lines from commercial sunflower hybrids. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 2008;43(9):1159-162. DOI: 10.1590/S0100-204X2008000900009
- Feng J., Zhang X., Zhang M., Guo L., Qi T., Tang H., Zhu H., Wang H., Qiao X., Xing C., Wu J. Physical mapping and InDel marker development for the restorer gene *Rf2* in cytoplasmic male sterile CMS-D8 cotton. *BMC Genomics*. 2021;22(1):24. DOI: 10.1186/s12864-020-07342-y
- Gavrilova V.A., Rozhkova V.T. Donors of Pollen Fertility Restoration of Sunflower CMS Lines for Heterosis Breeding. In: *Identified plant gene pool and breeding*. St. Petersburg; 2005. p.377-379. [in Russian] (Гаврилова В.А., Рожкова В.Т. Доноры восстановления фертильности пыльцы линий ЦМС подсолнечника для гетерозисной селекции. В кн.: *Идентифицированный генофонд растений и селекция*. 2005;377-379).
- Gavrilova V.A., Rozhkova V.T., Anisimova I.N. Sunflower genetic collection at the Vavilov Institute of Plant Industry. *Helia*. 2014;37(60):1-16. DOI: 10.1515/helia-2014-0001

- Goryunov D.V., Anisimova I.N., Gavrilova V.A., Chernova A.I., Sotnikova E.A., Martynova E.U., Boldyrev S.V., Ayupova A.F., Gubaev R.F., Mazin P.V., Gurchenko E.A., Shumskiy A.A., Petrova D.A., Garkusha S.V., Mukhina Z.M., Benko N.I., Demurin Y.N., Khaitovich P.E., Goryunova S.V. Association mapping of fertility restorer gene for CMS PET1 in sunflower. *Agronomy*. 2019;9(2):49. DOI: 10.3390/agronomy9020049.
- Horn R., Kusterer B., Lazarescu E., Prüfe M., Friedt W. Molecular mapping of the *Rfl* gene restoring fertility in PET1-based F1 hybrids in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2003;106(4):599-606. DOI: 10.1007/s00122-002-1078-y
- Horn R., Radanovic A., Fuhrmann L., Sprycha Y., Hamrit S., Jockovic M., Miladinovic D., Jansen C. Development and validation of markers for the fertility restorer gene *Rfl* in sunflower. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(6):1260. DOI: 10.3390/ijms20061260
- Hu X., Sullivan-Gilbert M., Kubik T., Danielson J., Hnatiuk N., Marchione W., Greene T., Thompson S.A. Mapping of the Ogura fertility restorer gene *Rfo* and development of *Rfo* allele-specific markers in canola (*Brassica napus* L.). *Molecular Breeding*. 2008;22:663-674. DOI: 10.1007/s11032-008-9207-1
- Leclercq P. Une sterilité cytoplasmique chez le tournesol. *Ann. Amélior. Plant.* 1969;19(2):99-106. [In French].
- Leonova I.N. Molecular markers: implementation in crop plant breeding for identification, introgression, and gene pyramiding. *Russian Journal of Genetics*. 2013;17(2):314-325. [in Russian] (Леонова И.Н. Молекулярные маркеры: использование в селекции зерновых культур для идентификации, интрогрессии и пирамидирования генов. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2013;17(2):314-325). DOI: 10.1134/S2079059713060051
- Li J.T., Yang J., Chen D.C., Zhang X.I., Tang Z.S. An optimized mini-preparation method to obtain high-quality genomic DNA from mature leaves of sunflower. *Genetics and Molecular Research*. 2007;6(4):1064-1071.
- Markin N.V., Usatenko T.V., Usatov A.V., Tikhobaeva V.E., Gorbachenko O.F., Kulishova G.A., Azarin K.V. Informative DNA markers of gene *Rfl* – pollen fertility restorer CMS PET1 in sunflower. *Modern Problems of Science and Education*. 2013;4:110-122. [in Russian] (Маркин Н.В. Усатенко Т.В., Усатов А.В., Тихобаева В.Е., Горбаченко О.Ф., Кулишова Г.А., Азарин К.В. Определение информативных ДНК-маркеров гена *Rfl* – восстановителя фертильности пыльцы ЦМС PET1 подсолнечника. *Современные проблемы науки и образования*. 2013;4:110-122).
- Markin N., Usatov A., Makarenko M., Azarin K., Gorbachenko O., Kolokolova N., Usatenko T., Markina O., Gavrilova V. Study of informative DNA markers of the *Rfl* gene in sunflower for breeding practice. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. 2017;53(2):69-75. DOI: 10.17221/108/2016-CJGPB
- Navashin S.G. Selected works. Vol. 1. V.N. Sukachev, P.A. Baranov, M.S. Navashin (eds). Moscow; Leningrad: Academy of Sciences of the USSR; 1951. [in Russian] (Навашин, С.Г. Избранные труды. Т. 1 / под ред. В.Н. Сукачева, П.А. Баранова, М.С. Навашина. Москва; Ленинград: Изд-во АН СССР; 1951).
- Owens G.L., Baute G.J., Hubner S., Rieseberg L.H. Genomic sequence and copy number evolution during hybrid crop development in sunflowers. *Evolutionary Applications*. 2018;12(1):54-65. DOI: 10.1111/eva.12603.
- Rokitskii P.F. Introduction to statistical genetics (Vvedenie v statisticheskuyu genetiku). Minsk: Vysheishaya shkola; 1974. [in Russian]. (Рокицкий П.Ф. Введение в статистическую генетику. Минск: Вышэйшая школа; 1974).
- Şahin E., Kalenderoğlu A., Aydin Y., Evci G., Uncuoğlu A. SSR markers suitable for marker assisted selection in sunflower for downy mildew resistance. *Open Life Sciences*. 2018;13(1):319-326. DOI: 10.1515/biol-2018-0039
- Schnabel U., Engelmann U., Horn R. Development of markers for the use of the PEF1 cytoplasm in sunflower hybrid breeding. *Plant Breeding*. 2008;127(6):587-591. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2008.01516.x
- Sun X., Liu Y., Wang L., Zhu X., Gong Y., Xu L., Liu L. Molecular characterization of the *Rs-Rf* gene and molecular marker-assisted development of elite radish (*Raphanus sativus* L.) CMS lines with a functional marker for fertility restoration. *Molecular Breeding*. 2012;30(4):1727-1736. DOI: 10.1007/s11032-012-9756-1.
- Tang S., Yu J.K., Slabaugh M.B., Shintani K., Knapp J. Simple sequence repeat map of the sunflower genome. *Theoretical and Applied Genetics*. 2002;105:1124-1136. DOI: 10.1007/s00122-002-0989-y
- Voronova O.N., Gavrilova V.A. Quantitative and qualitative analysis of sunflower pollen (*Helianthus* L.) and its use in breeding work. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2019;180(1):95-104. [in Russian] (Воронова О.Н., Гаврилова В.А. Количественный и качественный анализ пыльцы подсолнечника (*Helianthus* L.) и его использование в селекционной работе. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2019;180(1):95-104. DOI: 10.30901/2227-8834-2019-1-95-104).
- Yue B., Vick B.A., Cai X., Hu J. Genetic mapping for the *Rfl* (fertility restoration) gene in sunflower (*Helianthus annuus* L.) by SSR and TRAP markers. *Plant Breeding*. 2010;129(1):24-28. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2009.01661.x

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ CAPS-МАРКЕРА, АССОЦИИРОВАННОГО С ГЕНОМ *Rf2* У СОРГО (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)

Радченко Е. Е.^{1*}, Алпатьева Н. В.¹, Карабицина Ю. И.¹, Рязанова М. К.², Кузнецова Е. Б.¹, Романова О. И.¹, Анисимова И. Н.¹

¹Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г.Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44

* ✉ eugene_radchenko@rambler.ru

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» (СПбГУ), 199034 Россия, г.Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7-9;

Актуальность. Создание гетерозисных гибридов на основе цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС) является ведущей стратегией селекции сорго (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). В контроле признака восстановления фертильности пыльцы форм с ЦМС А1 (milo), наиболее широко используемым в селекции, принимают участие не менее двух доминантных комплементарных генов, *Rf1* и *Rf2*, а также ген *Rf5*. Разработка доступных молекулярных маркеров *Rf* генов сорго весьма актуальна для гибридной селекции, так как с их помощью можно значительно ускорить процесс создания материнских стерильных линий (А), линий – закрепителей стерильности (В) и восстановителей фертильности пыльцы (R) при создании гетерозисных гибридов F₁. **Материал и методы.** Материалом исследования служили 36 образцов сорго из коллекции ВИР, различающихся по способности к восстановлению фертильности пыльцы при ЦМС А1-типа. Изучали нуклеотидный полиморфизм фрагментов длиной 935 пн PPR-генов *Sobic.002G057050*, *Sobic.002G054100*, *Sobic.002G054200*, расположенных на хромосоме 2. **Результаты.** Полученные с помощью праймеров 2459403fw и 2459403 фрагменты длиной 935 пн включали участки трех генов: *Sobic.002G057050*, *Sobic.002G054100*, *Sobic.002G054200*. Для идентификации вариантной последовательности *Sobic.002G057050-1090*, ассоциированной с геном *Rf2*, была подобрана рестриктаза Tru9 I, позволяющая получить в суммарном спектре уникальный для исследованных R-линий фрагмент длиной 572 пн. В коллекции генетических ресурсов ВИР такой маркер был найден у 10 линий сорго из западного Китая и Киргизии, используемых селекционерами в качестве восстановителей. Ни у одной из трех линий со стерильной цитоплазмой и их фертильных аналогов, а также у 7 образцов кафрского сорго, не имеющих функциональных аллелей генов *Rf*, фрагмент не обнаружен. **Заключение.** Показано, что маркер может быть использован для отбора и проверки чистоты R и В/А линий, а также применим в гибридной селекции при проверке гибридности семян F₁ и анализа гибридных популяций, полученных от скрещивания исследованных R-линий 924-4, 928-1, 929-3, 931-1, 933-1/6, 1237-3, 1243-2, 1251, 1150-1, F₁₀BC₂ и А линий Низкорослое 81с, А-83 и А-10598. Можно предположить, что у R-линий, не имеющих маркера CAPS-572, способность восстанавливать фертильность пыльцы определяется другим *Rf* геном. У исследованных R и В/А линий изученный фрагмент *Sobic.002G057050* имеет 22 SNP на участке длиной 935 пн, следовательно, разработка CAPS-маркеров для их идентификации и дифференциации может быть перспективной.

Ключевые слова: цитоплазматическая мужская стерильность, А1 (milo), восстановление фертильности пыльцы, генетический контроль, ПЦР-маркеры, рестрикционный анализ

Для цитирования:

Радченко Е.Е., Алпатьева Н.В., Карабицина Ю.И., Рязанова М.К., Кузнецова Е.Б., Романова О.И., Анисимова И.Н. Разработка и валидация CAPS-маркера, ассоциированного с геном *Rf2* у сорго (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(2):38-47. DOI: 10.30901/2658-6266-2021-2-04

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/10.30901/2658-6266-2021-2-04> **Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы. Все авторы одобрили рукопись. Конфликт интересов отсутствует.**

Благодарности: Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования России в рамках соглашения № 075-15-2020-911 от 16.11.2020 о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF CAPS-MARKER ASSOCIATED WITH THE *Rf2* GENE IN SORGHUM (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)

Radchenko E. E.^{1*}, Alpatieva N. V.¹, Karabitsina Yu. I.¹, Ryazanova M. K.², Kuznetsova E. B.¹, Romanova O. I.¹, Anisimova I. N.¹

¹N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR),
42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia

*  eugene_radchenko@rambler.ru

²Saint Petersburg State University (SPbU),
7/9 Universitetskaya Emb., 199034, St. Petersburg, Russia

Background. The development of heterotic hybrids based on cytoplasmic male sterility (CMS) is the leading strategy in breeding sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). The trait of pollen fertility restoration in forms with CMS A1 (milo), predominantly used in sorghum breeding, is determined by at least two dominant complementary genes *Rf1* and *Rf2*, and also gene *Rf5*. The development of accessible molecular markers of sorghum *Rf* genes is highly relevant for hybrid breeding, since they can significantly accelerate the process of creating female sterile forms (A lines), sterility maintainers (B lines) and pollen fertility restorers (R lines). **Material and methods.** The studied material included 36 sorghum accessions from the VIR collection, which differed by the ability to restore pollen fertility in forms with A1-type CMS. The nucleotide polymorphism of 935 bp fragments of the PPR genes *Sobic.002G057050*, *Sobic.002G054100*, and *Sobic.002G054200* located at the chromosome 2 was studied. **Results.** The fragments obtained with the use of a pair of 2459403fw and 2459403 primers were 935 bp long and included parts of three genes: *Sobic.002G057050*, *Sobic.002G054100*, *Sobic.002G054200*. For identifying the sequence variant *Sobic.002G057050-1090* associated with the *Rf2* gene, Tru9 I restrictase was chosen, which allows obtaining a 572 bp fragment unique for all the studied R lines. Such a marker was found in 10 sorghum lines from West China and Kyrgyzstan, which are widely used in breeding as fertility restorers. The fragment was found neither in three lines with sterile cytoplasm and their fertile analogues, nor in 7 accessions of kafir sorghum, which lacked functional alleles of *Rf* genes. **Conclusions.** It has been demonstrated that the marker can be used for selection and checking purity of R and B/A lines. It is also applicable for verifying hybridity of F₁ seeds and analyzing hybrid populations from crosses of R lines 924-4, 928-1, 929-3, 931-1, 933-1/6, 1237-3, 1243-2, 1251, 1150-1, F₁₀BC₂ with A lines Nizkorosloe 81s, A-83 and A-10598. It may be suggested that the ability to restore pollen fertility in R lines, which lack the marker CAPS-572, is determined by another *Rf* gene. The studied 935 bp fragment of *Sobic.002G057050* harbours 22 SNP, therefore the development of CAPS-markers for their identification and differentiation can be promising.

Key words: cytoplasmic male sterility, A1 (milo), pollen fertility restoration, genetic control, PCR markers, restriction analysis

For citation:

Radchenko E.E., Alpatieva N.V., Karabitsina Yu.I., Ryazanova M.K., Kuznetsova E.B., Romanova O.I., Anisimova I.N. Development and validation of CAPS-marker associated with the *Rf2* gene in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(2):38-47. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-2-04

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/10.30901/2658-6266-2021-2-04> **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:

Radchenko E.E. <https://orcid.org/0000-0002-3019-0306>

Alpatieva N.V. <https://orcid.org/0000-0002-5531-2728>

Karabitsina Yu.I. <https://orcid.org/0000-0002-8384-5134>

Ryazanova M.K. <https://orcid.org/0000-0003-4444-3658>

Kusnetsova E.B. <https://orcid.org/0000-0002-9804-1286>

Anisimova I.N. <https://orcid.org/0000-0003-0474-8860>

УДК 633.174:631.527.56:577.21

Поступила в редакцию: 15.05.2021

Принята к публикации: 25.06.2021

Acknowledgments: The work was carried out with the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in the framework of Agreement No. № 075-15-2020-911 of 16.11.2020 on providing a grant in the form of subsidies from the federal budget for the implementation of state support for the creation and development of the world-class scientific center “Agrotechnologies for the future”.

Введение

Сорго (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) – ценное сельскохозяйственное растение, возделываемое в 85 странах мира в качестве кормовой, пищевой и технической культуры. Сорго обладает рядом ценных биологических свойств: высокими кормовыми и питательными качествами, высокой фотосинтетической активностью, устойчивостью к засухе и выносливостью к засолению почв, хорошей экологической пластичностью. Наблюдаемые в последние десятилетия изменения климата сопровождаются возрастанием температур, увеличением частоты и интенсивности засух, поэтому интерес к сорго как перспективной страховой культуре в Российской Федерации неуклонно возрастает (Alabushev et al., 2017). По сравнению с большинством других злаков, сорго имеет небольшое число хромосом и малый объем генома (около 800 Мб), что делает его уникальным объектом для генетических и геномных исследований (Paterson et al., 2009; Boatwright et al., 2021).

Ведущей стратегией селекции сорго в мире является создание гетерозисных гибридов на основе цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС), открытой в 1930-х гг. М.И. Хаджиновым (Hadjinov, 1937) и Стивенсом и Квинби (Stephens, Quinby, 1934). В настоящее время наиболее широко используется тип ЦМС А1 (milo), впервые описанный Стивенсом и Холландом (Stephens, Holland, 1954) как результат взаимодействия цитоплазмы milo с ядерными генами, полученными при гибридизации, от кафрского сорго.

Известно, что в контроле признака восстановления фертильности пыльцы форм с ЦМС А1 (milo) принимают участие не менее двух доминантных комплементарных генов *Rf* (*Restoration of pollen fertility*, восстановление фертильности пыльцы), *Rf1* и *Rf2*, а также ген *Rf5* (Klein et al., 2005; Jordan et al., 2010, 2011), локализованные на хромосомах SBI-08, SBI-02 и SBI-05, соответственно.

Разработка доступных молекулярных маркеров генов *Rf* сорго весьма актуальна для гибридной селекции, так как с их помощью можно значительно ускорить процесс получения материнских стерильных линий (А), линий-закрепителей стерильности (В) и восстановителей фертильности пыльцы (R) при создании гетерозисных гибридов F₁ на основе ЦМС. Молекулярные маркеры эффективны при подборе родительских пар, а также могут служить дополнительным инструментом при изучении генетического разнообразия линий сорго, сохраняемых в генетических банках семян. Идеальными маркерами генов *Rf*, безусловно, могут служить аллель-специфичные вну-

трилокусные маркеры, разработанные на основе анализа полиморфизма кодирующих последовательностей. Последовательность гена-кандидата в локусе *Rf1* известна; его продукт относится к классу PPR-белков. Опубликованы SSR-маркеры, наиболее близкие к локусу *Rf1*. Один из них – микросателлитный маркер Xtxp18 – использован для молекулярной идентификации аллелей гена *Rf1* в коллекционных образцах Аграрного научного центра «Донской» (Vozhzhova et al., 2021). Наиболее вероятный ген-кандидат в локусе *Rf2* – гомолог гена *Rf1* риса *Oryza sativa* L, восстановитель фертильности пыльцы при ЦМС ВТII-типа (Jordan et al., 2010). Фрагмент последовательности гена *Rf2* (XM_002459403.1) из первой версии аннотированного генома *Sorghum bicolor* (Paterson et al., 2009) использовался нами в качестве референсного при сравнительном анализе полиморфизма у линий-носителей рецессивного и доминантного аллелей (Anisimova et al., 2017). Почти одновременно и независимо от нас индийским ученым Мадугула с соавторами (Madugula et al., 2018) было выполнено тонкое генетическое картирование локуса *Rf2*; в качестве референсной использовалась последовательность предполагаемого гена *Sobic.002G057050* из обновленной версии аннотированного генома *Sorghum bicolor* (McCormick et al., 2017). Авторы секвенировали полноразмерную геномную последовательность гена-кандидата *Rf2*, изучили характер его экспрессии у линий, используемых в национальных селекционных программах по созданию гибридов сорго, провели анализ полиморфизма аллельных вариантов и предложили ряд SSR-маркеров для выявления функционального аллеля (Madugula et al., 2018). При изучении другого селекционного материала, используемого в гибридной селекции на территории Западной Африки, с использованием технологии секвенирования GBS Канте с соавторами (Kante et al., 2018) идентифицировали гены *Rf2* и *Rf5*, а также QTL, влияющие на проявление признака восстановления фертильности пыльцы. В последовательности *Sobic.002G057050* (ген *Rf2*) авторы выявили миссенс-мутацию в позиции 1090 первого экзона PPR-гена. Мутация связана с нуклеотидной заменой А/Т и позволяет четко дифференцировать линии-восстановители фертильности (R-линии) и закрепители стерильности (B-линии). Для идентификации мутации была использована технология KASP™ (Конкурентная аллель-специфичная ПЦР /Competitive Allele Specific PCR) и разработан KASP¹-маркер (Competitive Allele Specific PCR), и с помощью ПЦР исследован пул сортов сорго Северной Африки (Kante et al., 2018). Настоящее исследование посвящено разработке маркера CAPS

¹ **От Редактора:** Маркер получил название KASP, поскольку акроним CASP, более правильный с грамматической точки зрения, уже к тому времени получил распространение в биологии для обозначения трансмембранного белка матрикса аппарата Гольджи (например, см. Renna et al., 2005 DOI: 10.1007/s11103-005-4618-4)

¹ **Editor's note:** The marker was named KASP because the CASP acronym, which is more correct in terms of grammar, had already become common in biology to denote the transmembrane matrix protein of the Golgi apparatus (for example, see Renna et al., 2005 DOI: 10.1007/s11103-005-4618-4)

(Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) для поиска носителей этой мутации у линий сорго коллекции ВИР, различающихся по способности к супрессии фенотипа ЦМС А1-типа.

Материал и методы

Для разработки и валидации маркера, ассоциированного с доминантным аллелем гена *Rf2*, исследовали 20 линий, отобранных по устойчивости к фитофагу, обыкновенной злаковой тле (*Schizaphis graminum* Rondani), из образцов хлебного сорго (Radchenko, 2000, 2006). Все линии восстанавливают фертильность пыльцы в полевых условиях. Кроме того, исследовали 7 линий

кафрского сорго из США, способность к восстановлению фертильности пыльцы которых ранее не изучалась. Материалом служили также стерильные линии на основе ЦМС А1 (milo) Низкорослое 81с (Украина), А-10598 и А-83 (Индия), их фертильные аналоги Низкорослое 81ф, В-10598 и В-83, гибрид F_1 Низкорослое 81с \times 929-3 и устойчивые к *S. graminum* сестринские линии $F_{10}BC_2$, $F_{11}BC_2$, выделенные из гибридов от скрещиваний стерильной линии Низкорослое 81с с восстановителем 929-3, который защищен двумя доминантными генами устойчивости к краснодарской популяции данного фитофага (Radchenko, 2006). Список образцов представлен в таблице 1.

Таблица 1. Материал исследования

Table 1. The studied material

№ по каталогу ВИР/ VIR Catalogue number	Образец, происхождение/ Accession, origin	Способность восстанавливать фертильность пыльцы или закреплять стерильность при ЦМС А1-типа/ The ability to restore fertility of pollen or to maintain sterility in case of A1 type CMS
830	Джугара белая, Китай	Восстановитель фертильности
831	Джугара белая, Китай	Восстановитель фертильности
922	Джугара белая, Китай	Восстановитель фертильности
923	Джугара белая, Китай	Восстановитель фертильности
924	Джугара белая, Китай	Восстановитель фертильности
928	Джугара белая, Китай	Восстановитель фертильности
929	Джугара белая, Китай	Восстановитель фертильности
930	Джугара белая, Китай	Восстановитель фертильности
931	Джугара белая, Китай	Восстановитель фертильности
932	Джугара белая, Китай	Восстановитель фертильности
933	Джугара белая, Китай	Восстановитель фертильности
1206/В	Джугара белая, Китай	Восстановитель фертильности
1237	Джугара белая, Китай	Восстановитель фертильности
1239	Джугара белая, Китай	Восстановитель фертильности
1240	Джугара белая, Китай	Восстановитель фертильности
1241/А	Джугара белая, Китай	Восстановитель фертильности
1243	Джугара белая, Китай	Восстановитель фертильности
1251	Джугара белая, Китай	Восстановитель фертильности
2588	Джугара белая, Китай	Восстановитель фертильности
1150	Джугара, Киргизия	Восстановитель фертильности
-	Низкорослое 81с, Украина	Стерильная линия
-	Низкорослое 81ф, Украина	Закрепитель стерильности
10774	А-83, Индия	Стерильная линия
10775	В-83, Индия	Закрепитель стерильности
9071	А-10598, Индия	Стерильная линия
9072	В-10598, Индия	Закрепитель стерильности
161	Sunrise kaffir, США	Не изучено
198	Red Kaffir, США	«
225	Dawn Kaffir 186, США	«
239	White Kaffir Corn, США	«
244	Blackhull Kaffir, США	«
245	Blackhull Kaffir, США	«
251	Sunrise Kaffir, США	«
-	$F_{11}BC_2$, Низкорослое 81с \times 929-3	Стерильная линия
-	$F_{10}BC_2$, Низкорослое 81с \times 929-3	Восстановитель фертильности
-	F_1 , Низкорослое 81с \times 929-3	.

В качестве референсных при разработке CAPS-маркера использовали нуклеотидные последовательности *Sobic.002G057050*, *Sobic.002G054100*, *Sobic.002G054200*, *Sobic.002G059700* и XM_002459403.2, представленные в международных информационных базах (Plaza, 2020; Blast, 2020), а также фрагмент вариантной последовательности, ассоциированной с геном восстановления фертильности пыльцы *Rf2* у инбредной R-линии Lata (Kante et al., 2018). Нумерация нуклеотидов соответствует последовательности *Sobic.002G057050*.

ДНК выделяли из суммарной пробы как минимум пяти проростков, либо из 10-20 индивидуальных растений, выращенных в теплице по протоколу, основанному на использовании SDS-буфера (Dorokhov, Kloke, 1997) с нашими модификациями (Anisimova et al., 2018).

Аmplification проводили в реакционной смеси объемом 25 мкл, содержащей 50 нг геномной ДНК, однократный буфер для ПЦР, 2,0 мМ MgCl₂, по 5 пМ каждого из праймеров: 2459403fw – CAGGGGCCAAATGTTGTTAC и 2459403rev – CACAGTTTTATATTTCCGTGATAGTG (Ansimova et al., 2017), по 0,2 мМ каждого dNTP и 1 е.а. *Taq* ДНК полимеразы. ПЦР проводили в следующем режиме: 95°C – 3 мин; 35 циклов: 95°C – 30 с, 55°C – 30 с и 72°C – 2 мин; финальная элонгация – 10 мин при 72°C. Рестриктию продуктов ПЦР с помощью фермента Tru9 I (аналог MseI) проводили при 65°C в 10 мкл реакционной смеси (SibEnzyme, Russia). Продукты амплификации и рестрикции анализировали с помощью электрофореза в 1,5 или 3% агарозном геле, и визуализировали в 0,005% растворе бромистого этидия.

Продукты ПЦР, полученные с помощью праймеров 2459403fw и 2459403rev (Anisimova et al., 2017) для образцов сорго, характеризующихся мужской фертильностью, а именно: Низкорослое 81ф, В-10598 (В-линии) и 1240-1, 1206/В-2, 929-3, F₁₀BC₂ (R-линии), выделяли из ПЦР-смеси с помощью набора реактивов «Cleanup

Standard» (Evrogen, 2020) и клонировали в pAL-TA-вектор (Evrogen, 2020). Лигирование вектора со вставкой проводили по протоколу той же фирмы (Evrogen, 2020). Для трансформации использовали штамм DH5α *Escherichia coli* (Migula) Castellani and Chalmers. Клоны отбирали с помощью ПЦР. Подробно методика лигирования, трансформации и анализа данных описана в Методических указаниях ВИР (Alpatieva et al., 2019). Фрагменты, полученные путем амплификации ДНК двух-трех клонов, секвенировали в двух направлениях. Работу проводили с использованием оборудования ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИХМ на приборе ABI 3500xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA). Выравнивание полученных последовательностей и их анализ проводили с помощью программы MEGA Version 7.0 (Kumar et al., 2016). Позиции нуклеотидов соответствуют их нумерации в последовательности гена-кандидата *Sobic.002G057050* в биоинформационной базе Plaza.

Результаты

Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей фрагментов *PPR*-генов в локусе *Rf2* и разработка CAPS-маркера для идентификации SNP, ассоциированных с доминантным аллелем *Rf2*

Для разработки CAPS-маркера, позволяющего идентифицировать вариантную последовательность локуса *Sobic.002G057050*, ассоциированную с доминантным аллелем *Rf2*, провели анализ отличий последовательности ДНК размером в один нуклеотид (SNP, Single Nucleotide Polymorphism) на участке длиной 26 нуклеотидов, приведенном в работе Канте с соавторами (Kante et al, 2018). В последовательности гена фрагмент находится в интервале между нуклеотидами 1081 и 1106 (рис. 1).

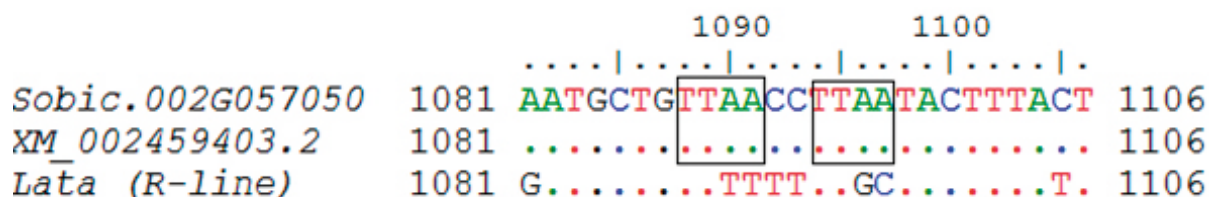


Рис. 1. Фрагменты референсных последовательностей *Sobic.002G057050* и XM_002459403.2, представленных в международных биоинформационных базах данных Plaza и Blast. Lata – инбредная линия – восстановитель фертильности пыльцы (R-линия) (Kante et al. (2018)). Участки узнавания рестриктазой Tru9 I в референсных последовательностях выделены рамкой.

Fig. 1. Fragments of reference sequences *Sobic.002G057050* and XM_002459403.2 presented in Plaza and Blast international bioinformatic databases. Lata – an inbred line – pollen fertility restorer (R-line) (Kante et al. (2018)). Tru9 I restriction sites in reference sequences are framed.

В референсных последовательностях *Sobic.002G057050* и ХМ_002459403.2 он включает два сайта ТТАА, узнаваемых эндонуклеазой Tru9 I, а у R-линий, ни одного. Для того, чтобы разработать CAPS-маркер, необходимо было амплифицировать более протяженный участок, однако вариантная последовательность в работе Канте с соавторами (Kante et al, 2018) не была опубликована. Поэтому для амплификации использовали праймеры 2459403fw и 2459403rev, ранее разработанные нами для амплификации фрагмента ХМ_002459403.1 длиной 935 пн, который локализован в интервале между позициями нуклеотидов 337 и 1271 (Anisimova et al., 2017). В референсных последовательностях фрагмент такой протяженности включает 5 сайтов рестрикции.

Для того, чтобы определить число сайтов рестрикции в последовательности амплифицированного фрагмента у образцов сорго из коллекции ВИР, различающихся по способности восстанавливать фертильность пыльцы, первоначально были исследованы последовательности локуса *Sobic.002G057050* у двух В-линий: Низкорослое 81ф, В-10598 и двух R-линий, одна из которых (929-3) получена отбором из образца хлебного сорго к-929, а вторая – путем гибридизации (Низкорослое 81с × 929-3), поколение F₁₀BC₂. Амплифицированные фрагменты были клонированы, а затем отдельные клоны использованы для секвенирования последовательностей

изучаемых фрагментов. У фертильных аналогов стерильных линий Низкорослое 81ф и В-10598 последовательности *Sobic.002G057050* оказались в значительной степени сходны с референсными и предсказуемо включали пять сайтов рестрикции ферментом Tru9 I (рис. 2). Напротив, у R-линий были найдены существенные отличия. При сравнении последовательностей фрагментов В-линий и референсных образцов выявили 22 SNP, включая характерную для R-линий замену А/Т в позиции 1090 (табл. 2). Сайтов ТТАА, узнаваемых рестриктазой Tru9 I, было три.

Исходя из позиций выявленных SNP, число рестрикционных фрагментов в электрофоретических спектрах после обработки эндонуклеазой должно было различаться у линий-восстановителей фертильности и закрепителей стерильности: электрофоретический спектр у восстановителей 929-3 и у F₁₀BC₂ должен был включать фрагменты длиной 572 пн, 210 пн, 83 пн и 70 пн, а у В-линий – 459 пн, 210 пн, 107 пн, 83 пн, 70 пн и 6 пн. Однако наблюдавшиеся профили оказались в обоих случаях более многокомпонентными из-за присутствия в ампликонах фрагментов других PPR-генов, гомологичных *Sobic.002G057050*. После секвенирования клонированных фрагментов у R- и В-линий были найдены последовательности, характерные для *Sobic.002G054100* и *Sobic.002G054200*.

Таблица 2. Нуклеотидный полиморфизм участка кодирующей последовательности гена *Sobic.002G057050* в диапазоне 337-1271 пн

Table 2. Nucleotide polymorphisms within the fragment of *Sobic.002G057050* coding region in the 337-1271 bp range

Образец/ Accession	Позиции нуклеотидов в последовательности предполагаемого гена <i>Sobic.002G057050</i> из международной биоинформационной базы Plaza/ Nucleotide position according to putative gene sequence <i>Sobic.002G057050</i> in Plaza international bioinformatic database																					
	871	878	881	882	887	889	1056	1081	1090	1091	1092	1093	1096	1097	1105	1117	1124	1125	1128	1134	1137	1138
Низкорослое 81ф (В)/ Nizkorosloe 81f (B)	A	A	C	G	A	T	T	A	A	A	C	C	A	A	C	C	T	T	C	A	A	A
В-10598	A	A	C	G	A	T	T	A	A	A	C	C	A	A	C	C	T	T	C	A	A	A
R-линия 929/ R-line 929	G	C	T	C	G	G	G	G	T	T	T	T	G	C	T	G	A	G	A	T	T	G
R-линия F ₁₀ BC ₂ / R-line F ₁₀ BC ₂	G	C	T	C	G	G	G	G	T	T	T	T	G	C	T	G	A	G	A	T	T	G

		1090	1100	
			
Sobic.002G057050	1081	AATGCTG	TTAACCTTAA	TACTTTACT 1106
XM_002459403.2	1081 1106
Nizkorosloe 81f clone 1	1081 1106
B-10598 cone 1	1081 1106
929-3 (R line) clone 1	1081	G.....	TTTT GCT 1106
Sobic.002G054100	1081	.C.....	.C.T 1106
B-10598 cone_2	1081	.C.....	.C.T 1106
929-3 (R line) clone 2	1081	.C.....	.C.T 1106
Sobic.002G054200	1081	.C.....	.C.T 1106
929-3 (R line) clone 3	1081	.C.....	.C.T 1106
Nizkorosloe 81f clone 2	1081	.C.....	.C.T 1106

Рис. 2. Выравнивание последовательностей *Sobic.002G057050*, *Sobic.002G054100*, *Sobic.002G054200* и XM_002459403.2; 929-3 – R-линия, Низкорослое 81f и B-10598 – фертильные аналоги стерильных линий. Участки TТАА, узнаваемые рестриктазой Tru9 I, обведены рамкой.

Fig. 2. Alignment of sequences *Sobic.002G057050*, *Sobic.002G054100*, *Sobic.002G054200* and XM_002459403.2; 929-3 – R line, Nizkorosloe 81f and B-10598 – fertile analogs of sterile lines. TТАА restriction sites of Tru9 I are framed.

Варианты последовательности *Sobic.002G059700* не обнаружены, вероятно, вследствие значительных ее отличий в областях праймирования от последовательностей гомологичных *PPR*-генов. Все обнаруженные варианты *Sobic.002G054100* и *Sobic.002G054200* имели сайт рестрикции в интервале 1088-1097 пн, следовательно, фрагмент длиной 572 оказался уникальным и присутствовал только у линий 929-3 и F₁₀BC₂ с вариантной последовательностью *Sobic.002G057050-1090*, не имеющей сайтов узнавания рестриктазой Tru9 I в этом диапазоне (929 R-line clone 1, см. рис. 2).

Валидация маркера CAPS-572 у образцов сорго коллекции ВИР с разной способностью к восстановлению фертильности пыльцы

Для того, чтобы доказать возможность использования разработанного маркера для идентификации вариантной последовательности *Sobic.002G057050-1090*, ассоциированной с доминантным аллелем гена *Rf2*, у линий сорго из коллекции ВИР провели рестрикционный анализ продуктов ПЦР, полученных с парой праймеров 2459403fw и 2459403rev у образцов из коллекции ВИР. В качестве носителей рецессивного аллеля *rf2* были изучены 7 образцов кафрского сорго, а также стерильные линии с цитоплазмой A1: Низкорослое 81с, А-83, А-10598. Ни у одного из образцов маркерный фрагмент не обнаружен. Следует отметить, что отсутствие фрагмента 572 пн предполагалось и для референсной последовательности,

источником которой служила линия-закрепитель стерильности BT × 623 *S. bicolor*.

Была проверена чистота полученных нами линий от скрещивания протестированных образцов Низкорослое 81с (ЦМС А1) и восстановителя фертильности 929-3. Новые линии создавались путем отбора фертильных R (F₁₀BC₂) и стерильных А форм (F₁₁BC₂), соответственно. Все проанализированные растения линии-восстановителя фертильности имели маркер CAPS-572, в то время как стерильные растения – нет. Кроме того, наличие маркерного фрагмента в спектре подтвердило гибридный генотип растений F₁ от скрещивания Низкорослое 81с × 929-3. Помимо 929-3, было проанализировано еще 19 линий, отобранных из образцов Джугары белой, происходящих из западного Китая и Киргизии (рис. 3). Их способность восстанавливать фертильность пыльцы при скрещиваниях со стерильными линиями А1-типа была проверена в полевых условиях. Гены, определяющие эту способность, ранее не были идентифицированы. У линий 924-4, 928-1, 931-1, 933-1/6, 1237-3, 1243-2, 1251, 1150-1 был обнаружен фрагмент длиной 572 пн, что свидетельствует о наличии у них вариантной последовательности *Sobic.002G057050-1090*, ассоциированной с геном *Rf2*. В остальных образцах Джугары белой маркерный фрагмент обнаружен не был. У линий 1206/В-2 и 1240-1 были выборочно клонированы и секвенированы фрагменты. Вариантной последовательности не выявлено.

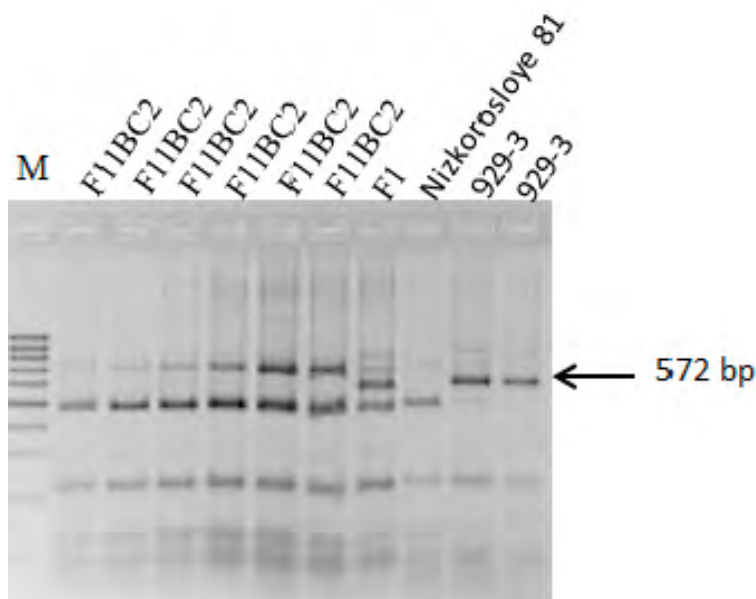


Рис. 3. Электрофоретические спектры ампликонов, полученных с помощью праймеров 2459403fw и 2459403rev после действия рестриктазы Tru9 I у стерильных линий $F_{11}BC_2$ (6 растений) и Низкорослое 81с (одно растение), у линии-восстановителя фертильности пыльцы 929-3 и гибрида F_1 , полученного от скрещивания линий Низкорослое 81с и 929-3. М – маркер молекулярного веса, 572 bp – маркерный фрагмент, ассоциированный с доминантным аллелем гена *Rf2*.

Fig. 3. Electrophoretic patterns of amplicons obtained with the use of primers 2459403fw and 2459403 after treatment with restrictase Tru9 I in sterile lines $F_{11}BC_2$ (6 plants) and Nizkorosloe 81f (one plant), in fertility restorer 929-3 and F_1 hybrid obtained from crossing lines Nizkorosloe 81s and 929-3. М – molecular weight marker, 572 bp – marker fragment associated with the *Rf2* dominant allele.

Обсуждение

Канте с соавторами (Kante et al., 2018) обнаружили полиморфизм нуклеотидной последовательности в первом экзоне *PPR*-гена *Sobic.002G057050*, локализованном во второй хромосоме генома сорго, и доказали его связь со способностью R-линий восстанавливать фертильность пыльцы в скрещиваниях со стерильными линиями, имеющими цитоплазму А1. Несинонимичная мутация в позиции 1090 в последовательности гена, приводящая к замене аденина на тимин, была ключевой в разработке CAPS-маркера, позволившего дифференцировать R- и A/B-линии. Нуклеотид А является маркером рецессивного аллеля *rf2*; он характерен для стерильных материнских линий А и линий В – закрепителей стерильности. Нуклеотид Т в позиции 1090 является маркером доминантного аллеля и присутствует в последовательностях гена у R-линии – восстановителей фертильности. Все проанализированные В-линии несли рецессивный аллель *rf2*, а 37 из 50 R-линий имели доминантный аллель. Такую же нуклеотидную замену нашли Мадугула с соавторами (Madugula et al., 2018)

в индийских линиях 296А и RS29. Авторы определили эту миссенс-мутацию как возможный маркер гена *Rf2*. Замена является смысловой и функциональной, т.е. приводит к смене неполярной аминокислоты фенилаланин на полярную – аспарагин. В нашей работе был исследован фрагмент *Sobic.002G057050* длиной 935 пн у линий сорго из коллекции ВИР и, помимо замены Т/А в позиции 1090, обнаружен значительный полиморфизм между линиями из коллекции ВИР с разной способностью восстанавливать пыльцу. Всего найдено 22 SNP. К транзциям относятся 5 замен А/Г и 4 замены Т/С, к трансверсиям – 3 А/С, 3 Г/Т, 5 А/Т и 2 Г/С; 15 из 22 замен оказались смысловыми. Значительное число SNP делает возможным разработку более доступных CAPS-маркеров. В настоящей работе для диагностики вариантной последовательности локуса *Rf2*, включающей нуклеотид Т в позиции 1090, разработан маркер, названный CAPS-572. Мы амплифицировали фрагмент гена длиной 935 пн и показали, что R-линии, с одной стороны, и A/B – с другой, отличаются числом сайтов узнавания рестриктазой Tru9 I и уникальным для линий-восстановителей является фрагмент 572 пн. Ни у одной из проанализированных

линий со стерильной цитоплазмой и их фертильных аналогов, а также у 7 образцов кафрского сорго, не имеющих функциональных генов *Rf*, такого фрагмента обнаружено не было. У 10 из 21 проанализированных линий из коллекции ВИР, обладающих способностью восстанавливать фертильность пыльцы, обнаружен фрагмент 572 пн, маркирующий доминантный аллель *Sobic.002G057050*. Маркер может быть успешно использован при вовлечении R-линий 924-4, 928-1, 929-3, 931-1, 933-1/6, 1237-3, 1243-2, 1251 и 1150-1 и F₁₀BC₂ в гибридизацию со стерильными линиями Низкорослое 81с, А-83 и А-10598, а также при проверке истинности гибридов F₁ и чистоты отобранных линий.

Заключение

Разработанный в ходе настоящего исследования маркер может быть использован в семеноводстве при проверке генетической чистоты R- и В/А-линий и оценке полноты гибридизации. Он также может быть эффективен при анализе гибридных популяций, полученных от скрещивания исследованных R-линий 924-4, 928-1, 929-3, 931-1, 933-1/6, 1237-3, 1243-2, 1251, 1150-1, F₁₀BC₂ со стерильными линиями Низкорослое 81с, А-83 и А-10598. Можно предположить, что у R-линий, не имеющих маркера CAPS-572, способность восстанавливать фертильность пыльцы определяется другим *Rf* геном. У исследованных R и А/В линий изученный фрагмент *Sobic.002G057050* имеет 22 SNP на участке длиной 935 пн, следовательно, разработка CAPS-маркеров для их идентификации и дифференциации может быть перспективной.

References/Литература

Alabushev A.V., Shishova E.A., Romanukin A.E., Ermolina G.M., Gorpinichenko S.I. Origin of sorghum and development of its breeding. *Scientific Journal of KubSAU*. 2017;127(03). [in Russian] (Алабушев А.В., Шишова Е.А., Романюкин А.Е., Ермолина Г.М., Горпиченко С.И. Происхождение сорго и развитие его селекции. *Научный журнал КубГАУ*. 2017;127(03):281-294. DOI: 10.21515/1990-4665-127-017)

Alpatieva N.V., Antonova O.Yu., Radchenko E.E., Abdullaev R.A., Karabitsina Y.I., Anisimova I.N. PCR diagnostics for harmful organisms of guar: (guidelines). E.K. Potokina (ed.). St. Petersburg: VIR; 2019. 36 p. [in Russian] (Алпатьева Н.В., Антонова О.Ю., Радченко Е.Е., Абдуллаев Р.А., Карабицина Ю.И., Анисимова И.Н. ПЦР-диагностика вредных организмов гуара: (методические указания) / под ред. Е.К. Потокиной. Санкт-Петербург: ВИР; 2019). DOI: 10.30901/978-5-907145-44-3

Anisimova I.N., Alpatyeva N.V., Abdullaev R.A., Karabitsina Y.I., Kuznetsova E.B. Screening of plant genetic resources with the use of DNA markers: basic principles, DNA isolation, PCR setup, agarose gel electrophoresis: (guidelines). E. E. Radchenko (ed.). St. Petersburg: VIR; 2018. [in Russian] (Анисимова И.Н., Алпатьева Н.В., Абдуллаев Р.А., Карабицина Ю.И., Кузнецова Е.Б. Скрининг генетических ресурсов растений с использованием ДНК-маркеров: основные принципы, выделение ДНК, постановка ПЦР, электрофорез в агарозном геле: (методические указания) / под ред. Е.Е. Радченко. Санкт-Петербург: ВИР; 2018). DOI: 10.30901/978-5-905954-81-8

Anisimova I.N., Ryabova D.N., Malinovskaya E.V., Alpatieva N.V.,

Karabitsina Yu.I., Radchenko E.E. Polymorphism of grain sorghum from VIR collection for the characters associated with the CMS-*Rf* genetic system. *Agricultural Biology*. 2017;52(5):952-963. [in Russian] (Анисимова И.Н., Рябова Д.Н., Малиновская Е.В., Алпатьева Н.В., Карабицина Ю.И., Радченко Е.Е. Полиморфизм по признакам, ассоциированным с генетической системой ЦМС-*Rf*, у зернового сорго из коллекции ВИР. *Сельскохозяйственная биология*. 2017;52(5):952-963). DOI: 10.15389/agrobiology.2017.5.952rus

Blast (Basic Local Alignment Search Tool): [website]. URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/> [дата обращения: 10.12.2020].

Boatwright J.L., Brenton Z.W., Boyles R.E., Sapkota S., Myers M.T., Jordan K.E., Dale S.M., Shakoор N., Cooper E.A., Morris G.P., Kresovich S. Genetic characterization of a *Sorghum bicolor* multiparent mapping population emphasizing carbon-partitioning dynamics. *G3: Genes, Genomes, Genetics*. 2021;11(4):jkab060. DOI: 10.1093/g3journal/jkab060

Dorokhov D.B., Klocke E. A rapid and economic technique for RAPD analysis of plant genomes. *Russian Journal of Genetics*. 1997;33(4):358-365. [in Russian] (Дорохов Д.Б., Клоке Э. Быстрая и экономичная технология RAPD анализа растительных геномов. *Генетика*. 1997;33(4):443-450).

Evrogen: [website]. URL : <http://evrogen.ru/kit-user-manuals/pAL-TA.pdf> [дата обращения: 05.03.2020].

Hadjinov M.I. Sterility in varietal hybrids of sorghum. *Bulletin of applied botany, of genetics and plant breeding. Ser. 2, Genetics, plant breeding and cytology*. 1937;(7):417-446. [in Russian] (Хаджинов М.И. Стерильность у межрасовых гибридов сорго. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. Сер. 2, Генетика, селекция и цитология растений*. 1937;(7):417-446).

Jordan D.R., Mace E.S., Henzell R.G., Klein P.E., Klein R.R. Molecular mapping and candidate gene identification of the *Rf2* gene for pollen fertility restoration in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Theoretical and Applied Genetics*. 2010;120:1279-1287. DOI: 10.1007/s00122-009-1255-3

Jordan D.R., Klein R.R., Sakreowski K.G., Henzell R.G., Klein P.E., Mace E.S. Mapping and characterization of *Rfs* a new gene conditioning pollen fertility restoration in A₁ and A₂ cytoplasm in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Theoretical and Applied Genetics*. 2011;123(3):383-396. DOI: 10.1007/s00122-011-1591-y

Kante M., Rattunde H.F.W., Nébié B., Weltzien E., Haussmann B.I.G., Leiser W.L. QTL mapping and validation of fertility restoration in West African sorghum A1 cytoplasm and identification of a potential causative mutation for *Rf2*. *Theoretical and Applied Genetics*. 2018;131:2397-2412. DOI: 10.1007/s00122-018-3161-z

Klein R.R., Klein P.E., Chhabra A.K., Dong J., Pammi S., Childs K.L., Mullet J.E., Rooney W.L., Schertz K.F. Molecular mapping of the *Rf1* gene for pollen fertility restoration in sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2001;102:1206-1212. DOI: 10.1007/s001220100575

Klein R.R., Klein P.E., Mullet J.E., Minx P., Rooney W.L., Schertz K.F. Fertility restorer locus *Rf1* of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) encodes a pentatricopeptide repeat protein not present in the colinear region of rice chromosome 12. *Theoretical and Applied Genetics*. 2005;111:994-1012. DOI: 10.1007/s00122-005-2011-y

Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*. 2016;33:1870-1874. DOI: 10.1093/molbev/msw054

Madugula P., Uttam A.G., Tonapi V.A., Ragimasalawada M. Fine mapping of *Rf2*, a major locus controlling pollen fertility restoration in sorghum A1 cytoplasm, encodes a PPR gene and its validation through expression analysis. *Plant Breeding*. 2018;137:148-161. DOI: 10.1111/pbr.12569

McCormick R.F., Truong S.K., Sreedasyam A., Jenkins J., Shu S., Sims D., Kennedy M., Amirebrahimi M., Weers B.D., McKinley B., Mattison A., Morishige D.T., Grimwood J., Schmutz J., Mullet J.E. The *Sorghum bicolor* reference genome: improved assembly, gene annotations, a transcriptome atlas, and signatures of genome organization. *The Plant Journal*. 2017;93:338-354. DOI: 10.1111/tbj.13781

-
- Paterson A.H., Bowers J.E., Bruggmann R., Dubchak I., Grimwood J., Gundlach H., Haberer G., Hellsten U., Mitros T., Poliakov A., Schmutz J., Spannagl M., Tang H., Wang X., Wicker T., Bharti A.K., Chapman J., Feltus F.A., Gowik U., Grigoriev I.V., Lyons E., Maher C.A., Martis M., Narechania A., Otiillar R.P., Penning B.W., Salamov A.A., Wang Y., Zhang L., Carpita N.C., Freeling M., Gingle A.R., Hash C.T., Keller B., Klein P., Kresovich S., McCann M.C., Ming R., Peterson D.G., Mehboub-Ur-Rahman M., Ware D., Westhoff P., Mayer K.F., Messing J., Rokhsar D.S. The *Sorghum bicolor* genome and the diversification of grasses. *Nature*. 2009;457(7229):551-556. DOI: 10.1038/nature07723
- Plaza: [website]. URL : <https://bioinformatics.psb.ugent.be/plaza/versions/plaza> [дата обращения: 10.12.2020].
- Radchenko E.E. Identification of genes for resistance to greenbug in sorghum. *Russian Journal of Genetics*. 2000;36(4):510-519.
- Radchenko E.E. Inheritance of greenbug resistance in several forms of grain sorghum and sudangrass. *Russian Journal of Genetics*. 2006;42(1):55-59. DOI: 10.1134/S1022795406010078
- Stephens J.C., Quinby J.R. Anthesis, pollination, and fertilization in sorghum. *Journal of Agricultural Research*. 1934;49(2):123-136.
- Stephens J.C., Holland R.F. Cytoplasmic male sterility for hybrid sorghum seed production. *Agronomy Journal*. 1954;46:20-23. DOI: 10.2134/agronj1954.00021962004600010006x
- Vozhzhova N.; Ionova E.; Popov A.; Kovtunov V. Identification of fertility gene *Rfl* in collection samples of *Sorghum bicolor* (L.) Moench in Southern Russia. *Biology and Life Sciences Forum*. 2021;4:81. DOI 10.3390/IECPS2020-08710

«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

ГЛАВНАЯ | О НАС | ТЕКУЩИЙ ВЫПУСК | АРХИВЫ | ОБЪЯВЛЕНИЯ | ПРИНЯТО В ПЕЧАТЬ

«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

Читать далее

ТЕКУЩИЙ ВЫПУСК

Том 3, № 4 (2020) [Скачать выпуск PDF](#)

ОТ РЕДАКЦИИ ▶

Вступительная статья

Е. К. Хлесткина, Т. А. Гавриленко

PDF (RUS)

4-4 16

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. Кочиева, Е. В. Овзг, Х. Х. Алишев, Е. А. Симаков, Т. А. Гавриленко

PDF (RUS)

5-52 164

Аннотация ▾

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 ▾

Отправить статью

Правила для авторов

Редакционная коллегия

Редакционный совет

Рецензирование

Этика публикаций

OPEN ACCESS

We are Crossref Member

АНТИПЛАГИАТ

СОЦИОНЕТ

research4life

IOI LENS.ORG

НАУЧНАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ БИБЛИОТЕКА LIBRARY.RU

Google

РГБ

Science Index

WorldCat

Mendeley

CC

unpaywall

Baidu

ПОПУЛЯРНЫЕ СТАТЬИ

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

Том 2, № 4 (2019)

Отдаленная гибридизация как метод получения гаплоидных растений у злаков

Том 2, № 2 (2019)

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

Том 2, № 2 (2019)

<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 30.06.2021 Формат бумаги 70×100^{1/8}
Бумага офсетная. Печать офсетная
Печ. л. 6 Тираж 30 экз.

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(2), 2021