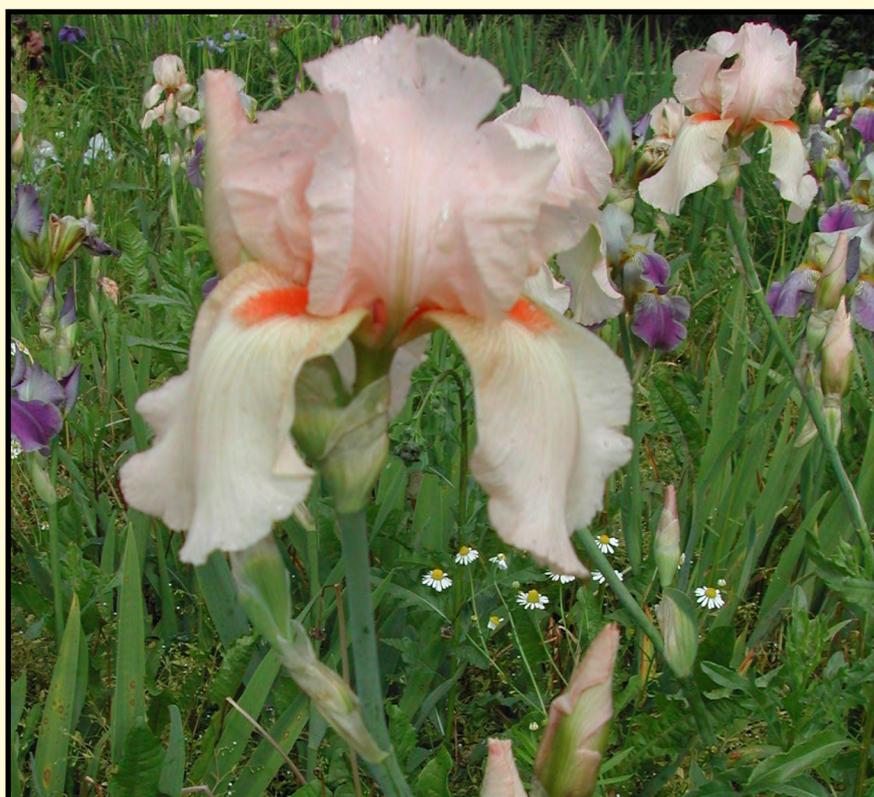


ISSN: 2658-6266 (Print)

ISSN: 2658-6258 (Online)

# БИОТЕХНОЛОГИЯ И СЕЛЕКЦИЯ РАСТЕНИЙ

4(4), 2021



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



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

НАУЧНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

# БИОТЕХНОЛОГИЯ И СЕЛЕКЦИЯ РАСТЕНИЙ

2021, 4(4)

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](mailto: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: 10.30901/2658-6266-2021-4  
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(4)

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](mailto: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:

материал к статье «Селекция декоративных растений в России», авторы - Рахмангулов Р.С.\*, Тихонова Н.Г. Фотографии цветков образцов коллекции ВИР: верхнее фото - лилейник 'Дзержинка' к-13658, автор сорта – Г.И. Родионенко; нижнее фото - ирис 'Маршал Покрышкин' к-13695, авторы сорта – И. В. Дрягина, Г.Е. Казаринов. Фотографии любезно предоставлены младшим научным сотрудником ВИР М.В. Васильевой.

On the Cover:

materials to the article «Breeding of ornamental plants in Russia» by R.S. Rakhmangulov\*, N.G. Tikhonova. Photos of the florets of the VIR collection accessions: upper - daylily 'Dzerzhinka k-13658, variety Author G.I. Rodionenko; lower - iris 'Marshall Pokryshkin' k-13695, variety Authors I.V. Dryagina, G.E. Kazarinov. Photographs courtesy of VIR junior researcher M.V. Vasilyeva.

---

**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)  
Н. А. Колчанов – д.б.н., академик РАН (Россия)  
В. Н. Корзун – д-р (Германия)  
А. В. Кочетов – д.б.н., чл.-корр. РАН (Россия)  
Н. В. Кухарчик – д.с.-х.н. (Беларусь)  
В. М. Лукомец – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)  
Л. А. Лутова – д.б.н. (Россия)  
С. Мишева – д-р (Болгария)  
А. И. Моргунов – д-р (Турция)  
В. Ройчев – д.с.-х.н. (Болгария)  
А. А. Романенко – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)  
А. В. Рындин – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)  
Е. Н. Седов – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)  
И. А. Тихонович – д.б.н., академик РАН (Россия)  
П. Н. Харченко – д.б.н., академик РАН (Россия)  
Л. В. Хотылева – д.б.н., академик НАНБ (Беларусь)  
В. К. Шумный – д.б.н., академик РАН (Россия)

**Редакционная коллегия:**

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

**Editor-in-Chief:**

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

**Deputy Editor-in-Chief:**

**T. A. Gavrilenko** – Dr. Sci. in Biol.

**Executive Secretaries:**

**I. N. Anisimova** – Dr. Sci. in Biol.

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

**Editorial council:**

O. S. Afanasenko – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the RAS (Russia)  
G. A. Batalova – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)  
R. K. Bersimbaev – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the NAS RK (Kazakhstan)  
L. A. Bespalova – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)  
E. A. Egorov – Dr. Sci. in Econ., Full Member of the RAS (Russia)  
G. V. Eremin – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)  
V. G. Eremin – Dr. Sci. in Agricul., Professor (Russia)  
A. I. Grabovets – Dr. Sci. in Agricul., Corr. Member of the RAS (Russia)  
S. I. Grib – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the NAS of Belarus (Belarus)  
G. I. Karlov – Dr. Sci. in Biol., Corr. Member of the RAS (Russia)  
P. N. Kharchenko – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the RAS (Russia)  
L. V. Khotyleva – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the NAS of Belarus (Belarus)  
A. V. Kilchevsky – Dr. Sci. in Biol., Corr. Member of the NAS of Belarus (Belarus)  
A. V. Kochetov – Dr. Sci. in Biol., Corr. Member of the RAS (Russia)  
N. A. Kolchanov – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the RAS (Russia)  
V. N. Korzun – Dr. (Germany)  
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

## ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ 5

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

ПОЛИМОРФИЗМ  
МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ,  
СЦЕПЛЕННЫХ С ЛОКУСАМИ  
*Rf1* И *Pl<sub>5</sub>/Pl<sub>8</sub>* ПОДСОЛНЕЧНИКА  
*Helianthus annuus* L.

*Храбров И.Э., Антонова О.Ю.,  
Шаповалов М.И., Семенова Л.Г.* 15

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ СКРИНИНГ  
СОРТОВОЙ КОЛЛЕКЦИИ  
ЗЕМЛЯНИКИ ВИР НА НАЛИЧИЕ  
МАРКЕРА ГЕНА УСТОЙЧИВОСТИ  
К АНТРАКНОЗНОЙ ЧЕРНОЙ  
ГНИЛИ *Rca2*

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ 25

*Пендинен Г.И.*

НОВЫЕ ИНТРОГРЕССИВНЫЕ  
ФОРМЫ КУЛЬТУРНОГО ЯЧМЕНЯ,  
ПОЛУЧЕННЫЕ НА ОСНОВЕ  
МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ  
*Hordeum vulgare* L. × *Hordeum  
bulbosum* L.

## МЕТОДЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В СЕЛЕКЦИИ И СЕМЕНОВОДСТВЕ РАСТЕНИЙ 40

*Рахмангулов Р.С., Тихонова Н.Г.*

СЕЛЕКЦИЯ ДЕКОРАТИВНЫХ  
РАСТЕНИЙ В РОССИИ

# CONTENTS

## FROM THE EDITOR IN CHIEF 4

*Khlestkina E. K.*

### INTRODUCTORY ARTICLE

## STUDY OF PLANT GENETIC RESOURCES USING MOLECULAR GENETICS METHODS 5

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

POLYMORPHISM OF  
MICROSATELLITE MARKERS  
LINKED WITH *Rf1* AND *Pl<sub>5</sub>/Pl<sub>8</sub>*  
LOCI IN SUNFLOWER  
*Helianthus annuus* L.

*Khrabrov I.E., Antonova O.Yu.,  
Shapovalov M.I., Semenova L.G.* 15

MOLECULAR SCREENING  
OF THE VIR STRAWBERRY  
VARIETIES COLLECTION FOR THE  
PRESENCE OF A MARKER FOR  
THE ANTHRACNOSE BLACK ROT  
RESISTANCE GENE *Rca2*

## GENETIC BASES OF BIOTECHNOLOGY 25

*Pendinen G.I.*

NEW INTROGRESSIVE FORMS  
OF CULTIVATED BARLEY  
OBTAINED ON THE BASIS  
OF INTERSPECIFIC HYBRIDS  
*Hordeum vulgare* L. ×  
*Hordeum bulbosum* L.

## BIOTECHNOLOGY METHODS IN PLANT BREEDING AND SEED PRODUCTION 40

*Rakhmangulov R.S., Tikhonova N.G.*

BREEDING OF ORNAMENTAL  
PLANTS IN RUSSIA



**Уважаемые читатели!**

Сегодня эффективность селекционных программ во многом зависит от направленного использования образцов генетических ресурсов, обладающих селекционно ценными вариантами генов. Маркер-контролируемый отбор позволяет не только быстро проводить широкомасштабный скрининг образцов коллекций генетических ресурсов, но и далее в процессе селекции отслеживать в потомстве передачу целевых участков хроматина родителя-донора. В текущем выпуске представлены результаты экспериментальных работ, направленных на анализ диагностической ценности ДНК-маркеров для отбора образцов-носителей селекционно значимых генов. В статье Ю.И. Карабицыной с соавторами, посвященной маркированию генов восстановления фертильности пыльцы (*Rf1*) и устойчивости к ложной мучнистой росе (*Pl5/Pl8*) подсолнечника, у представителей репрезентативной выборки линий генетической коллекции ВИР различного происхождения описаны и детально охарактеризованы полиморфные аллели микросателлитных локусов, тесно сцепленных с изучаемыми генами. Линии-доноры генов восстановления фертильности пыльцы и устойчивости к ложной мучнистой росе в совокупности с информацией о сцепленных аллелях микросателлитных маркеров представляют собой ценный исходный материал для ускоренной маркер-контролируемой селекции

устойчивых гибридов подсолнечника.

В работе И.Э. Храброва с соавторами, посвященной молекулярному скринингу обширной части коллекции земляники ВИР, поддерживаемой на Майкопской опытной станции, с использованием ДНК-маркеров гена устойчивости к антракнозной черной гнили земляники *Rca2*, удалось выявить 16 устойчивых образцов-носителей маркера этого гена, представляющих ценный материал для селекции. Использование данных образцов в качестве доноров устойчивости к антракнозу может сопровождаться направленным отбором селекционного материала, унаследовавшего маркер STS-*Rca2*\_240, сцепленный с геном *Rca2*.

Важным источником расширения генетического разнообразия культурных растений служат дикие родичи. Однако процесс интрогрессии хроматина диких родичей в геномы культурных растений часто затруднен. В статье Г.И. Пендинен приведены данные о создании новых линий ячменя культурного *Hordeum vulgare* L. с интрогрессиями от дикорастущего вида *H. bulbosum* L. В получении интрогрессивных линий задействована многоступенчатая схема передачи хроматина *H. bulbosum* через этап получения тетраплоидных отдаленных гибридов. Контроль кариотипа и идентификация интрогрессированных участков на всех этапах проводили при помощи методов молекулярно-цитогенетического анализа.

В заключение выпуска представлена обзорная статья Р.С. Рахмангулова и Н.Г. Тихоновой, посвященная современной селекции декоративных растений. Охарактеризованы основные направления селекции декоративных культур в России, и обсуждена перспектива внедрения современных биотехнологических подходов для эффективного решения задач, стоящих в области селекции данных культур.

Главный редактор,  
Профессор РАН  
Е.К. Хлесткина



## ПОЛИМОРФИЗМ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ, СЦЕПЛЕННЫХ С ЛОКУСАМИ *Rf1* И *Pl<sub>5</sub>/Pl<sub>8</sub>* ПОДСОЛНЕЧНИКА *Helianthus annuus* L.

Карабичина Ю. И.<sup>1</sup>, Алпатьева Н. В.<sup>1</sup>, Кузнецова Е. Б.<sup>1</sup>, Гаврилова В. А.<sup>1</sup>, Титов Н. В.<sup>2</sup>, Радченко Е. Е.<sup>1</sup>, Анисимова И. Н.<sup>1\*</sup>

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

\* ✉ [irina\\_anisimova@inbox.ru](mailto:irina_anisimova@inbox.ru)

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

**Актуальность.** Микросателлитные (SSR) маркеры являются эффективным инструментом для паспортизации коллекций генетических ресурсов растений, а также для идентификации генов, детерминирующих важные биологические и агрономические признаки. Изучение их полиморфизма важно для характеристики генетического разнообразия коллекции подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) Цель настоящего исследования – анализ нуклеотидного полиморфизма SSR-маркеров, сцепленных с генами восстановления фертильности пыльцы (*Rf1*) и устойчивости к ложной мучнистой росе (*Pl5/Pl8*). **Материал и методы.** Изученный материал включал 84 самоопыленные линии генетической коллекции подсолнечника ВИР, гибриды F<sub>1</sub> и F<sub>2</sub> от скрещивания фертильных линий ВИР 365 и RIL130, а также гибриды от анализирующего скрещивания. С помощью ПЦР-анализа изучали полиморфизм SSR-маркеров ORS224, ORS511, ORS799 и HA4011. Для определения структуры микросателлитов и оценки характера их варибельности, амплифицированные фрагменты были клонированы и секвенированы. **Результаты.** Уникальные, отличающиеся по длине от типичных (свойственных большинству генотипов), аллели маркерного локуса ORS224 выявлены у четырех линий выборки, а уникальные аллели локуса ORS511 — у 10 генотипов. У линии ВИР 365 уникальный аллель ORS511 был представлен двумя фрагментами длиной 161 пн и 240 пн, линия RIL 130 характеризовалась типичным фрагментом 159 пн. В F<sub>2</sub> (ВИР 365 × RIL 130) и популяции от скрещивания ВИР 111А × (ВИР 365 × RIL 130) профили типичного и уникального маркеров наследовались как аллельные варианты одного локуса. Нуклеотидные последовательности уникальных аллелей отличались от типичных аллельных вариантов по длине и числу повторяющихся единиц (GA у ORS224 и AT/GT — у ORS511), а также наличию инделей и нуклеотидных замен. Отличия по длине аллельных вариантов 240 пн и 200 пн SSR-маркера HA4011 были обусловлены инделями длиной 80 пн, 47 пн и 4 пн. **Заключение.** Ряд линий генетической коллекции подсолнечника ВИР маркирован уникальными аллелями микросателлитных локусов ORS224 и ORS511, которые отличаются от часто встречающихся аллельных вариантов по длине и числу повторяющихся единиц, наличию инделей и нуклеотидных замен. Полиморфизм аллельных вариантов микросателлита HA4011 связан с наличием инделей 80 пн, 47 пн и 4 пн.

**Ключевые слова:** *Helianthus annuus* L., самоопыленные линии, генетическая коллекция, SSR-маркеры, наследование, повторяющийся мотив, индели

### Для цитирования:

Карабичина Ю.И., Алпатьева Н.В., Кузнецова Е.Б., Гаврилова В.А., Титов Н.В., Радченко Е.Е., Анисимова И.Н. Полиморфизм микросателлитных маркеров, сцепленных с локусами *Rf1* и *Pl<sub>5</sub>/Pl<sub>8</sub>* подсолнечника *Helianthus annuus* L. *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(4):5-14. DOI: 10.30901/2658-6266-2021-4-01

**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/10.30901/2658-6266-2021-4-01> **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 № 0662-2019-0001 «Коллекция масличных и прядильных культур ВИР: Изучение и расширение генетического разнообразия».

---

# POLYMORPHISM OF MICROSATELLITE MARKERS LINKED WITH *Rf1* AND *Pl<sub>5</sub>/Pl<sub>8</sub>* LOCI IN SUNFLOWER *Helianthus annuus* L.

Karabitsina Yu. I.<sup>1</sup>, Alpatieva N. V.<sup>1</sup>, Kusnetsova E. B.<sup>1</sup>, Gavrilova V. A.<sup>1</sup>, Titov N. V.<sup>2</sup>, Radchenko E. E.<sup>1</sup>, Anisimova I. N.<sup>1\*</sup>

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

\* ✉ irina\_anisimova@inbox.ru

<sup>2</sup>Pushkin Leningrad State University,  
10 Petersburgskoye shosse, Pushkin, St. Petersburg 196605, Russia

**Background.** Microsatellite (SSR) markers are an effective tool for certifying collections of plant genetic resources, as well as for identifying genes that determine valuable biological and agronomic traits. The knowledge of their polymorphism is important for characterizing genetic diversity within the sunflower (*Helianthus annuus* L.) collection. The present study was aimed at analyzing nucleotide polymorphism of SSR-markers linked with the genes for fertility restoration (*Rf1*) and downy mildew resistance (*Pl5/Pl8*). **Materials and methods.** The material included 84 self-pollinated lines of VIR sunflower genetic collection, F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub> hybrids from crosses between fertile lines VIR 365 and RIL130, and offspring from test crosses. Polymorphism of SSR markers ORS224, ORS511, ORS799 and HA4011 was studied by means of PCR analysis. To determine the microsatellite structure and variability, the amplified fragments were cloned and sequenced. **Results.** The unique alleles which differed from the typical ones (characteristic for most genotypes) were revealed in the ORS224 marker locus of four lines, and the unique alleles in the ORS511 locus were observed in 10 lines. The ORS511 unique allele of line VIR 365 included two 161 and 240 bp fragments, while line RIL130 was characterized by a typical 159 bp fragment. The profiles of typical and unique markers were inherited as allelic variants of the same locus in F<sub>2</sub> of (VIR 365 × RIL130) and a population from VIR IIIA × (VIR 365 × RIL130). The nucleotide sequences of unique alleles differed from typical allelic variants in the length and number of repeat units (GA in ORS224 and AT/GT in ORS511), and also by the presence of indels and nucleotide substitutions. Differences in length of HA4011 marker 240 and 200 bp allele variants were caused by 80, 47 and 44 bp indels. **Conclusions.** A number of lines in the VIR sunflower genetic collection are marked by the unique alleles of microsatellite loci ORS224 and ORS511, which differ from the frequently occurring variants in the length and number of repeat units, as well as in the presence of indels and nucleotide substitutions. Polymorphism of allele variants of HA4011 microsatellite is associated with the presence of indels of 80, 47 and 4 bp.

**Key words:** *Helianthus annuus* L., self-pollinated lines, genetic collection, SSR markers, inheritance, repeat motif, indels

## For citation:

Karabitsina Yu.I., Alpatieva N.V., Kusnetsova E.B., Gavrilova V.A., Titov N.V., Radchenko E.E., Anisimova I.N. Polymorphism of microsatellite markers linked with *Rf1* AND *Pl<sub>5</sub>/Pl<sub>8</sub>* loci in sunflower *Helianthus annuus* L. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(4):5-14. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-4-01

**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/10.30901/2658-6266-2021-4-01> **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:

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>

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

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

УДК 575.13:633.85

Поступила в редакцию: 06.12.2021

Принята к публикации: 20.12.2021

---

**Acknowledgments:** The research was performed within the framework of the State Assignment according to the Thematic Plan of VIR, Project No. 0662-2019-0001 “The Collection of Oil and Fiber Crops at VIR: Maintenance, Study, and Genetic Diversity Expansion”.

## Введение

Подсолнечник *Helianthus annuus* L. — ведущая масличная культура в России и основная в ряде стран мира. Производство семян подсолнечника в настоящее время основано на возделывании высокопродуктивных, устойчивых к болезням и вредителям сортов и гибридов. В общей структуре сортовых посевов в Российской Федерации доля площадей, занятых отечественными сортами и гибридами, не превышает 28% (Bochkovoy et al., 2019). Так, в государственном реестре сортов, зарегистрированных на территории РФ (по данным 2021 г.), числится 764 сорта и гибрида, из них всего 219 гибридов российской селекции (State Register of Selection Achievements, URL : <https://reestr.gossortrf.ru>). Для получения семян F<sub>1</sub> гибридов подсолнечника в качестве материнских форм используются линии с цитоплазматической мужской стерильностью (ЦМС) преимущественно PET1-типа (Leclercq, 1969). Приоритетная задача при создании межлинейных гибридов подсолнечника заключается в расширении генетического разнообразия родительских форм — материнских стерильных линий и отцовских восстановителей фертильности. Для восстановления фертильности пыльцы при ЦМС PET1-типа необходимо присутствие в генотипе доминантного аллеля гена *Rf1*, локализованного в группе сцепления 13 (LG13) (Horn et al., 2003). Особое внимание при создании гибридов уделяется наличию у родительских линий эффективных генов устойчивости к фитопатогенам, в том числе к возбудителю ложной мучнистой росы — грибу *Plasmopara halstedii* (Farl) Berl. & De Toni), заразахе *Orobanche cumana* Wallr. и другим (Antonova et al., 2011).

Вследствие эффекта «бутылочного горлышка», на ранних этапах селекции культурный подсолнечник имеет узкую генетическую основу, поэтому особое значение для расширения генофонда культуры имели методы интрогрессии ценных генов от диких видов и примитивных форм (Baute et al., 2015). В связи с задачами селекции, важное значение приобрели исследования генетического разнообразия исходного селекционного материала. Значительный прогресс в изучении генетического разнообразия подсолнечника был достигнут благодаря широкому использованию молекулярных маркеров. Для оценки уровня генетического разнообразия селекционных линий и коллекционных образцов, выяснения степени их родства, в исследованиях по межвидовой гибридизации применялись различные типы молекулярных маркеров: RFLP (Berry et al. 1995; Gentzbittel et al., 1995), RAPD (Arias, Rieseberg, 1995), AFLP (Hongtrakul et al., 1997, Cheres, Knapp, 1998). В последние десятилетия широкое распространение у подсолнечника и других культурных растений получили молекулярные маркеры, микросателлитные (SSR от англ. Simple Sequence Repeats) и SNP (от англ. Single Nucleotide Polymorphism). Они нашли применение в исследованиях генотипической структуры коллекций,

сохраняемых в генетических банках семян (Garayalde et al., 2011; Filippi et al., 2015; 2020), а также при анализе уровня генетического разнообразия селекционных линий (Sujatha et al., 2008; Darvishzadeh et al., 2010; Dimitrijević et al., 2010; Duca et al., 2013; Zia et al., 2014; Mwangi et al., 2019).

Полиморфизм микросателлитных последовательностей и возможности их использования для генотипирования у *H. annuus* впервые были продемонстрированы Н. Паньего с соавторами (Paniego et al., 2002). Из 170 праймеров авторы отобрали 20 маркеров, оказавшихся наиболее информативными при анализе 16 образцов культурного подсолнечника *H. annuus*. Среднее число аллелей на locus варьировало от 3 до 8, а уровень полиморфизма составил 0,55. Первая карта микросателлитных повторов генома *H. annuus*, включающая 579 полиморфных локусов, была получена С. Тангом (Tang et al., 2002). Эта карта в дальнейшем послужила основой для поиска молекулярных маркеров, сцепленных с генами интереса. К настоящему времени идентифицированы SSR-маркеры, сцепленные с локусами *Plarg* (LG1), *Pl6* (LG8) и *Pl5/Pl8* (LG13), детерминирующими устойчивость к широкому набору рас возбудителя ложной мучнистой росы *P. halstedii*. Показаны возможности применения SSR-маркеров для идентификации этих генов в селекционном материале (Ramazanova, Antonova, 2019). Определены отличающиеся по размеру варианты маркеров ORS610, ORS716, ORS1039, ORS1182, сцепленных с аллелями устойчивости/восприимчивости к патогену в локусах *Plarg* (Wieckhorst et al., 2010; Imerovski et al., 2014; Solodenko, Fait, 2017) и *Pl5/Pl8* (Şahin et al., 2018). Картированы SSR-маркеры гена *Rf1*, контролирующего признак восстановления фертильности пыльцы при ЦМС PET1-типа (Yue et al., 2010; Bulos et al., 2013). Диагностическая ценность ряда микросателлитных маркеров оценена с использованием методов ассоциативного и гибридологического анализов (Markin et al., 2013; 2017; Anisimova et al., 2021). Однако, детальные исследования полиморфизма аллелей микросателлитных локусов у подсолнечника до сих пор не проводились, информация о характеристике отличающихся по длине аллельных вариантов отсутствует. Цель настоящего исследования — характеристика нуклеотидного полиморфизма трех локализованных в группе сцепления 13 *H. annuus* микросателлитных маркеров, сцепленных с генами восстановления фертильности пыльцы (*Rf1*) и устойчивости к ложной мучнистой росе (*Pl5/Pl8*).

## Материал и методы

Изученный материал включал 84 самоопыленные линии генетической коллекции подсолнечника *H. annuus*. Большинство из них созданы в ВИР в результате многолетних исследований; в их происхождении принимали участие 66 различных источников: сорта российской и зарубежной селекции, внутривидовые и межвидо-

вые гибриды, а также российские и зарубежные линии (Gavrilova et al., 2014). Коллекция изученных линий характеризовалась разнообразием морфологических признаков: высотой растения (от 60 до 170 см), окраской листовой пластинки (зеленая, темно-зеленая, светло-зеленая, салатная), характером прикрепления к стеблю и длиной черешка (длинный, короткий, эректоидный, сидячий), наличием и разными типами ветвления (отсутствие ветвления, верхнее или нижнее ветвление, ветвление по всему стеблю из каждой пазухи листа), формой (длинные, короткие, полное отсутствие, махровые) и окраской (желтые, лимонные, красные, желто-коричневые) ложноязычковых цветков. В зависимости от предполагаемого генотипа по локусу *Rfl*, линии относились к следующим группам: стерильные линии ЦМС (генотип *rflrfl*), закрепители стерильности (генотип *rflrfl*) и восстановители фертильности пыльцы (генотип *RfRf*). Генотипы линий по локусу *Rfl* установлены методом тестерных скрещиваний (Rozhkova, Anaschenko, 1977; Gavrilova, Rozhkova, 2005; Gavrilova et al., 2014), а также с помощью диагностических молекулярных маркеров (Anisimova et al., 2021).

Суммарную ДНК выделяли из настоящих листьев полевых растений пятинедельного возраста с использованием СТАВ-буфера (Li et al., 2007). Для анализа полиморфизма микросателлитов, сцепленных с локусом *Rfl*, были выбраны три диагностических SSR-маркера: ORS224, ORS511, ORS799. Их расстояние от локуса по данным разных исследователей, варьирует от 2,2 сМ для ORS511 до 18,8 сМ для ORS224 (Yue et al., 2010; Bulos et al., 2013; Anisimova et al., 2021). Изучали также полиморфизм вариантов SSR-маркера HA4011, который ассоциирован с геном *P18*, относящимся к сложному кластеру *P15/P18* (Şahin et al., 2018). Последовательности праймеров ORS224, ORS511, ORS799 были отобраны из базы данных, опубликованной С. Тангом (Tang et al., 2002), последовательности праймеров, фланкирующих локус HA4011 опубликованы в работах Н. Паньего (Paniego et al., 2002) и Э. Шахин (Şahin et al., 2018). Разделение амплифицированных (клонированных) фрагментов ДНК проводили в 3% агарозном геле. В качестве маркера для определения размера фрагментов использовали GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific, USA).

Для оценки полиморфизма нуклеотидных последовательностей аллелей микросателлитных локусов, амплифицированные фрагменты были клонированы и секвенированы. Продукты амплификации выделяли из реакционной смеси с помощью набора реактивов «Cleanup Standard» (Евроген, Москва) и клонировали в клетках штамма DH5α *Escherichia coli* с использованием вектора pAL-TA (Евроген, Москва). Клоны отбирали с помощью ПЦР. Протоколы лигирования, трансформации и анализа данных приведены в Методических указаниях ВИР (Alpatieva et al., 2019). Секвенирование фрагментов выполнено на приборе ABI Prism3500xL (Applied Biosystems, USA) в Цен-

тре коллективного пользования научным оборудованием «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ.

Для определения аллельных отношений вариантов маркера ORS511: было выполнено скрещивание фертильной линии ВИР 365, ее предварительно стерилизовали обработкой гиббереллином (Anashchenko, 1967), с линией — восстановителем фертильности пыльцы RIL 130; получены гибриды  $F_1$  и  $F_2$ ; проведено скрещивание со стерильной линией ВИР 111А (ЦМС РЕТ1), у которой маркер отсутствовал. Скрещивания проводили в 2015 и 2016 годах на Кубанской опытной станции — филиале ВИР. Гибриды  $F_1$  выращены в 2016 году на Кубанской опытной станции — филиале ВИР и на опытном поле НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» (ППЛ ВИР), гибриды  $F_2$  (ВИР 365 × RIL 130) и ВИР 111А × (ВИР 365 × RIL 130) — в 2017 году на опытном поле ППЛ ВИР.

Для статистической обработки результатов расщепления применяли метод хи-квадрат ( $\chi^2$ ).

## Результаты и обсуждение

У 55 линий выборки полиморфизм микросателлитных локусов ORS224, ORS511 и ORS799 изучен ранее с помощью системы микрочипового электрофореза для исследования нуклеиновых кислот MCE-202 MultiNA (Shimadzu, Япония) (Karabitsina et al., 2016). В результате этого исследования для каждого из микросателлитных локусов были идентифицированы отличающиеся по длине варианты маркерных фрагментов. У ряда линий маркерные фрагменты не удалось амплифицировать, поэтому такие варианты были обозначены как «нулевые». «Нулевые» аллели в трех локусах были характерны для рецессивных гомозигот *rflrfl*, но отмечались также и у отдельных фертильных линий-закрепителей стерильности и восстановителей фертильности пыльцы. В локусах ORS224 и ORS511, наряду с «типичными» (по С. Тангу с соавторами, Tang et al., 2002) аллелями, выявлены новые, не описанные в литературе. Наибольшее число аллелей отмечено для локуса ORS511: в нем выявлено 5 аллелей («нулевой», 201-214 пн, 161+240 пн, 198 пн и типичный 159 пн), в то время как для локусов ORS224 и ORS799 идентифицировано соответственно четыре («нулевой», 105-106 пн, 124+140-146 пн, типичный 136 пн) и два аллеля («нулевой» и типичный 143 пн) (Karabitsina et al., 2016).

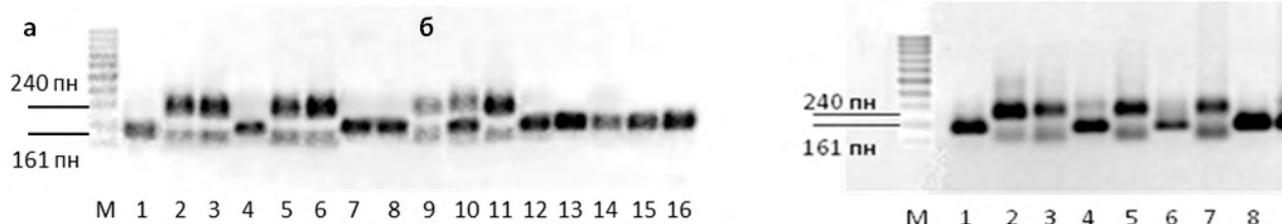
Линии ВИР 210 и ВИР 370 характеризовались уникальными профилями микросателлитов ORS224 (105-106 пн) и ORS511 (210-214 пн), а линии ВИР 376 и ВИР 378 обладали уникальным аллелем ORS224 (124 пн) и типичным ORS511 (159 пн). Заметим, что линии ВИР 376 и ВИР 378 получены на основе одного и того же источника — линии ВИР 104, в происхождении которой, по данным анализа полиморфизма запасного белка семян гелиантина, по-видимому, участвовали формы однолетнего дикорастущего подсолнечника (Gavrilova

et al., 2014). Всего в изученной выборке генотипов четыре линии (ВИР 210, ВИР 370, ВИР 376 и ВИР 378) характеризовались уникальными профилями маркера ORS224, тогда как уникальные аллели маркерного локуса ORS511 встречались чаще: они были характерны для 10 линий (ВИР 210, ВИР 370, ВИР 376, ВИР 378, ВИР 343, ВИР 381, ВИР 365, ВИР 705, ВИР 377, ВИР 130Б). Лишь две из 10 линий, у которых были выявлены уникальные аллели микросателлитных локусов ORS224 и ORS511 — ВИР 130 и ВИР 377 — не являлись восстановителями фертильности, то есть были рецессивными гомозиготами по локусу *Rfl*.

Результаты оценки размера амплифицированных фрагментов с использованием системы микрочипового электрофореза имеют погрешность  $\pm 5$  пн, поэтому полученные в исследовании Ю Карабициной с соавторами (Karabitsina et al., 2016) размеры ампликонов отличались от приведенных в оригинальной работе С. Танга с соавторами (Tang et al., 2002). Кроме того, одной из причин появления уникальных ампликонов у ряда линий могла быть неспецифическая амплификация. Для того, чтобы уточнить, являются ли уникальные аллели маркера ORS511 аллельными вариантами одного и того же локуса, мы изучили наследование ампликонов в расщепляющейся гибридной популяции  $F_2$  ВИР 365  $\times$  RIL 130, а также у растений популяции от скрещивания ВИР 111А  $\times$  (ВИР 365  $\times$  RIL 130). У линии ВИР 365 ампли-

коны, полученные с парой праймеров ORS511, были представлены двумя фрагментами — размером 161 пн и 240 пн, у линии RIL 130 — одним фрагментом размером 159 пн, свойственным большинству генотипов; у стерильной линии ВИР 111 с ЦМС РЕТ1-типа (рецессивный генотип по локусу *rflrfl*), фрагменты отсутствовали (Karabitsina et al., 2016).

В  $F_2$  (ВИР 365  $\times$  RIL 130) наблюдали два профиля амплифицированных фрагментов: фенотип отцовского родителя RIL 130 (единичный фрагмент размером 159 пн и фенотип материнского родителя ВИР 365, включавший два ампликона длиной 161 пн и 240 пн). Разница в подвижности между фрагментами 159 пн и 161 пн на электрофореграммах незаметна, поэтому гетерозиготы (гибридный фенотип) и гомозиготы по аллелю, характерному для линии ВИР 365, не различались. Соотношение фенотипических классов соответствовало теоретически ожидаемому 3:1 ( $\chi^2=0,27$ ;  $p>0,05$ ) (рис. 1, табл. 1). Популяция  $F_2$  ВИР 111А  $\times$  (ВИР 365  $\times$  RIL 130) расщеплялась на два фенотипических класса, соответствовавших фенотипам линий ВИР 365 и RIL 130; их соотношение соответствовало ожидаемому 1:1 ( $\chi^2=0,38$ ;  $p>0,05$ ). Рекомбинантные фенотипы в обеих популяциях не обнаружены. Результаты гибридологического анализа позволили предположить, что в локусе ORS511 линии ВИР 365 находятся две тесно сцепленные дублированные последовательности.



**Рис. 1. Электрофореграммы продуктов амплификации маркера ORS511.**

- а)  $F_2$  (ВИР 365  $\times$  RIL 130): 1 – RIL 130, 2 – ВИР 365, 3-16 – растения  $F_2$ ;  
 б) ВИР 111А  $\times$  (ВИР 365  $\times$  RIL 130): 1 – RIL 130, 2 – ВИР 365, 3-8 – гибридные растения,  
 М – маркер молекулярного веса ДНК

**Fig. 1. Electrophoregrams of the marker ORS511 amplification products.**

- а)  $F_2$  (VIR 365  $\times$  RIL 13), 1 – RIL 130, 2 – VIR 365, 3-16 –  $F_2$  plants;  
 б) VIR 111A  $\times$  (VIR 365  $\times$  RIL 130): 1 – RIL 130, 2 – VIR 365, 3-8 – hybrid plants,  
 M – DNA molecular weight marker

**Таблица 1. Наследование аллелей микросателлитного локуса ORS511 в гибридных популяциях F<sub>2</sub> (ВИР 365 × RIL 130) и ВИР 111А × (ВИР 365 × RIL 130)**

**Table 1. Inheritance of alleles of the microsatellite locus ORS511 in hybrid F<sub>2</sub> populations (VIR 365 × RIL 130) and VIR 111A × (VIR 365 × RIL 130)**

Гибрид Hybrid	Число растений с аллелями Number of plants with alleles		Ожидаемое соотношение Expected ratio	$\chi^2$	<i>p</i>
	159 пн	161, 240 пн			
F <sub>2</sub> (ВИР 365 × RIL 130)	44	17	3 : 1	0,27	> 0,05
ВИР 111А × (ВИР 365 × RIL 130)	19	23	1 : 1	0,38	> 0,05

Для уточнения структуры изучаемых аллелей ORS224 и ORS511, амплифицированные фрагменты из отдельных генотипов выделяли из геля, клонировали и секвенировали. Полиморфизм нуклеотидных последовательностей аллельных вариантов локуса ORS224 изучали у линий ВИР 376 и ВИР 740. Согласно литературным данным, аллель микросателлитного локуса ORS224 длиной 136 пн имеет структуру (GA)<sub>8</sub>N<sub>2</sub>(GA)<sub>13</sub> (Tang et al.,

2002). Варианты маркерного фрагмента ORS224 отличались по структуре и длине у изученных генотипов (рис. 2). У линии ВИР 740 последовательность ORS224 длиной 127 пн включала 20 динуклеотидов GA, а вариантный аллель линии ВИР 376 имел длину 113 пн, содержал 13 повторов GA и отличался от стандартного наличием делеции семи динуклеотидов GA в позиции 90 от начала фрагмента.



**Рис. 2. Выравнивание нуклеотидных последовательностей аллельных вариантов микросателлитного локуса ORS224 линий ВИР 376 и ВИР 740**

**Fig. 2. Alignment of nucleotide sequences of the microsatellite locus ORS224 allelic variants from lines VIR 376 and VIR 740**

Полиморфизм аллельных вариантов маркера ORS511 изучали у линий ВИР 740, ВИР 376, ВИР 210 и ВИР 370. Согласно ранее полученным оценкам, для линий ВИР 740 и ВИР 376 характерен типичный аллель ORS511 длиной около 158 пн. У линий ВИР 210, ВИР 370 и ВИР 130 Б выявлены отличающиеся по длине варианты маркера ORS511. Длина фрагмента у линии ВИР 210 составила 210-214 пн, у ВИР 370 – 244 пн, а у линии ВИР 130 Б – 198 пн (Karabitsina et al., 2016). Результаты анализа клонированных и секвенированных фрагментов показали, что полиморфные аллели локуса ORS511 у разных генотипов различаются не только по числу динуклеотидных мотивов AT и GT, но также по наличию вставки пяти

нуклеотидов G внутри микросателлита и однонуклеотидных замен во фланкирующих последовательностях у линий ВИР 370 и ВИР 210 (рис. 3). У отдельных растений линий ВИР 740 и ВИР 376 наблюдали гетерогенность ампликонов ORS511: у линии ВИР 740 присутствовали варианты 154 пн и 158 пн, а у линии ВИР 376 – 156 и 158 пн. Такие различия могли быть обусловлены специфической ошибкой амплификации (проскальзыванием матричной цепи). Внутрilineйный полиморфизм микросателлитных маркеров, а также наличие дублированных локусов, наблюдали и другие исследователи (Paniego et al., 2002). У линий ВИР 210 и ВИР 370 обнаружены транзигция (T→C) в пределах повторяющегося мотива AT,

а также транзиция (G→A) и трансверсия (A→C) во фланкирующих областях. По литературным данным, нуклеотидная последовательность микросателлитного локуса ORS511 имеет структуру (AT)<sub>7</sub>(GT)<sub>12</sub>, а длина маркерного фрагмента составляет 156 пн (Tang et al., 2002). Отличия по длине аллельных вариантов линий ВИР 210 и ВИР 370 от типичного аллеля (характерного для линии ВИР 740)

связаны с наличием вставки из пяти нуклеотидов G в повторяющейся GT-области, а также наличием вставки из шести повторов AT и семи — GT (см. рис 3, табл. 2). Выявленный полиморфизм можно объяснить высоким темпом мутирования в изучаемых локусах (особенно в микросателлитных последовательностях большого размера), а также неравным кроссинговером.

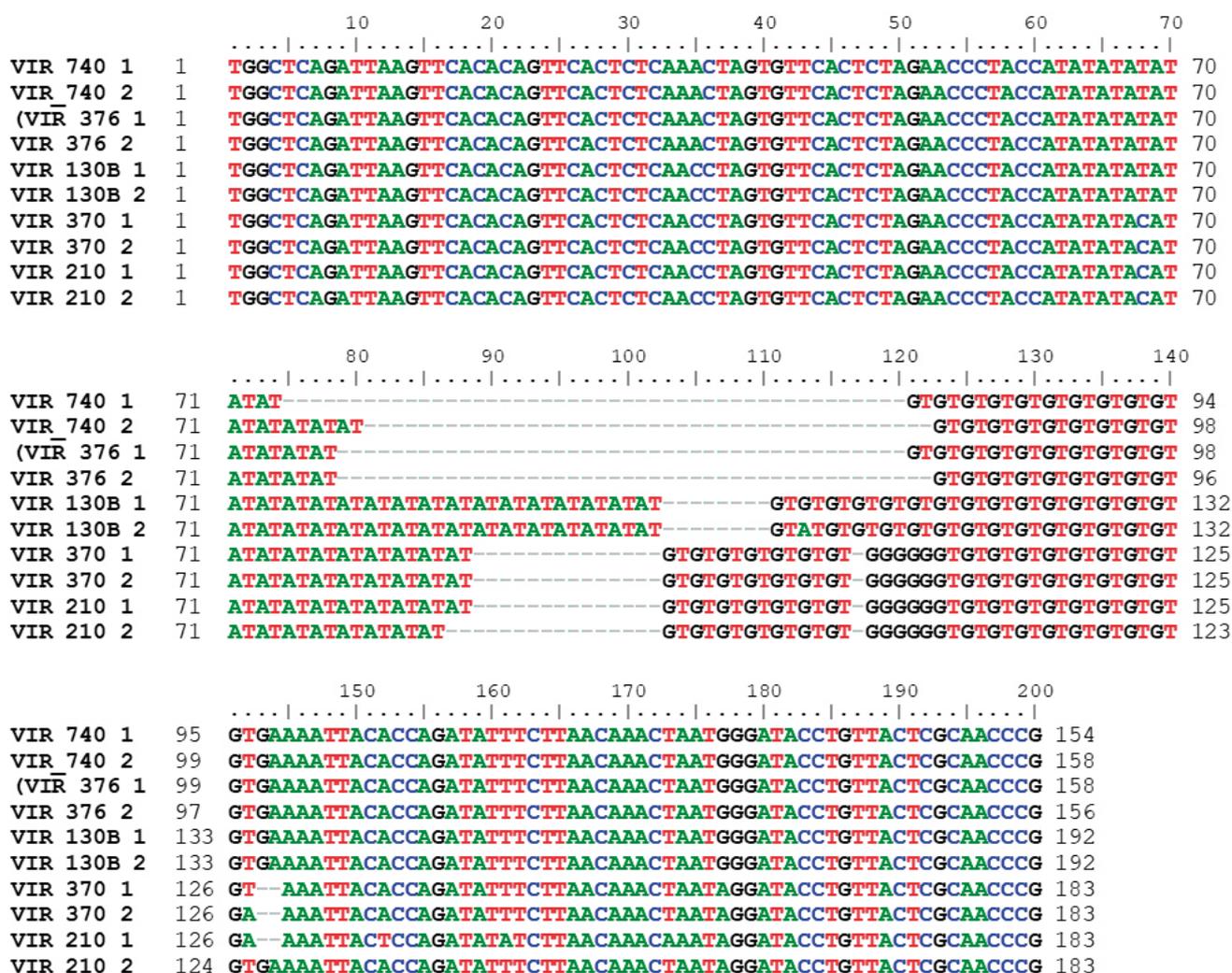


Рис. 3. Выравнивание нуклеотидных последовательностей аллельных вариантов микросателлитного локуса ORS511 линий ВИР 740, ВИР 376, ВИР 130 Б, ВИР 370, ВИР 210

Fig. 3. Alignment of nucleotide sequences of the microsatellite locus ORS511 allelic variants from lines VIR 740, VIR 376, VIR 130 B, VIR 370, VIR 210

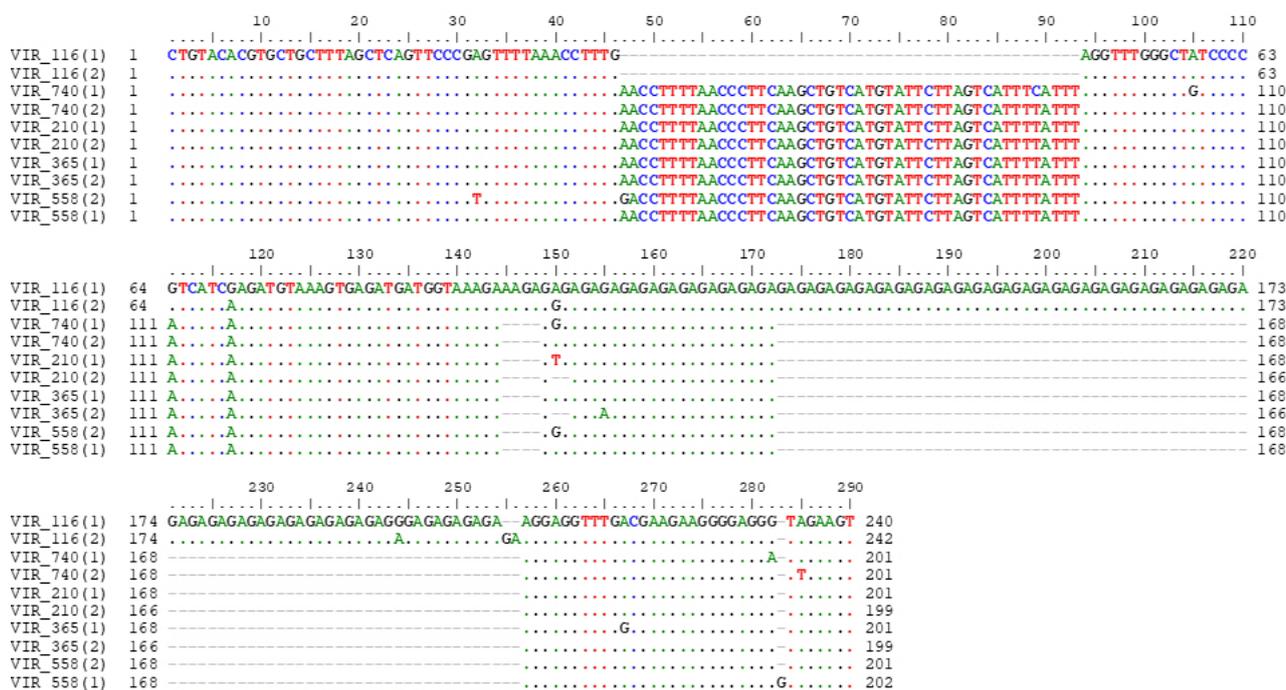
**Таблица 2. Нуклеотидный полиморфизм типичного и уникальных аллелей локуса ORS511**

**Table 2. Nucleotide polymorphism of typical and unique alleles of the microsatellite locus ORS511**

Линия Line	Число повторяющихся единиц Number of repeat units		Длина фрагмента, пн Fragment length, bp	Наличие вставки 5G Presence of 5G insertion	Наличие SNP во фланкирующих последовательностях Presence of SNPs in flanking sequences
	AT	GT			
ВИР 740	7, 10	10, 11	154, 158	-	-
ВИР 376	9	10, 11	156, 158	-	-
ВИР 210	12, 13 + AC	16, 17	183	+	+
ВИР 370	13 + AC	16, 17	181, 183	+	+

У разных генотипов выборки наблюдали два варианта отличающихся по длине продуктов амплификации с парой праймеров HA4011: размером 200 пн и 240 пн. Согласно ранее опубликованным данным (Şahin et al., 2018), маркерный фрагмент гена устойчивости *P18* имеет размер 240 пн, тогда как у генотипов, не имеющих аллеля устойчивости, длина фрагмента составляет 200 пн. Так, у сте-

рильной линии ВИР 116А амплифицированный фрагмент HA4011 имел длину 200 пн, а у фертильных линий ВИР 740, ВИР 210, ВИР 365 и ВИР 558 — около 240 пн. Результаты анализа полиморфизма нуклеотидных последовательностей аллельных вариантов HA4011 показали, что отличия по длине двух аллельных вариантов обусловлены инделями длиной 80 пн, 47 пн и 4 пн (рис. 4).



**Рис. 4. Выравнивание нуклеотидных последовательностей аллельных вариантов микросателлитного локуса HA4011 линий ВИР 116А, ВИР 740, ВИР 210, ВИР 365 и ВИР 558**

**Fig. 4. Alignment of nucleotide sequences of the microsatellite locus HA4011 allelic variants from lines VIR 116A, VIR 740, VIR 210, VIR 365 and VIR 558**

Полученные результаты свидетельствуют о том, что все три изученных микросателлитных локуса имеют в своей структуре повторяющиеся динуклеотидные мотивы: ORS224 и HA4011 – мотив GA, ORS511 – два мотива (AT и GT). Эти данные согласуются с наблюдениями Н. Паньего с соавторами (Paniego et al., 2002), показавших, что в геноме *H. annuus* преобладают микросателлитные мотивы (GA)*n*, (GT)*n*, (AT)*n*, тогда как (ATT)*n*, (TGG)*n*, и (ATC)*n*, а также тетра nukлеотид (CATA)*n* встречаются значительно реже. Заслуживает внимания наличие точковой мутации в пределах повторяющегося мотива микросателлита ORS511 у линий ВИР 210 и ВИР 370, а также вставки из пяти нуклеотидов G в повторяющейся области у этих линий. Как следует из литературных источников, частота мутирования в микросателлитных локусах в 10-100000 раз выше, чем в других областях генома, но мутации в микросателлитах преимущественно связаны с изменением числа повторяемых мотивов, а не с точковыми мутациями (Galinskaya et al., 2019). Микросателлиты ORS224 и ORS511 характеризовались вариабельностью по длине за счет изменения числа повторов, тогда как варианты последовательности в локусе HA4011 длиной 200 пн и 240 пн различались наличием вставок/делений по всей длине исследованного фрагмента.

Отсутствие фрагмента («нулевой» аллель) в ПЦР с парами праймеров ORS224 и ORS511 наблюдалось у стерильных линий с ЦМС РЕТ1-типа и фертильных линий-закрепителей стерильности, то есть у рецессивных гомозигот по локусу *Rfl*. Кроме того, такие аллели наблюдали и у отдельных линий-восстановителей фертильности (Karabitsina et al., 2016). Согласно данным из литературных источников, «нулевые» аллели негативно сказываются на оценке результатов популяционно-генетических исследований. Наиболее вероятной причиной «нулевых» аллелей микросателлитных локусов считается недостаточно эффективный отжиг праймеров вследствие мутаций во фланкирующих последовательностях, в частности, на 3'-конце сайта праймирования (Dakin, Avise, 2004).

### Заключение

У представителей репрезентативной выборки, включающей 84 линии генетической коллекции ВИР различного происхождения, описаны и детально охарактеризованы полиморфные аллели SSR-локусов ORS224 и ORS511, сцепленных с геном *Rfl*, а также локуса HA4011, ассоциированного с геном *P18*, относящимся к сложному кластеру *P15/P18*. Уникальные варианты маркера ORS224 выявлены у четырех линий, уникальные аллели ORS511 характерны для 11,9% изученных линий. Они отличаются от часто встречающихся аллельных вариантов по длине и числу повторяющихся единиц, наличию инделей и нуклеотидных замен. Охарактеризованные в работе уникальные аллели микросателлитных

локусов свидетельствуют об уникальности генетической коллекции подсолнечника и могут быть использованы как маркерные признаки при паспортизации отдельных линий.

### References / Литература

- Anashchenko A.V. The chemical castration of sunflower plants. *Doklady Vsesoyuznoi Akademii Sel'skokhozyaistvennykh Nauk imeni V.I. Lenina = Reports of the All-Union Academy of Agricultural Sciences named after V.I. Lenin*. 1967(2):17-18. [in Russian] (Анащенко А.В. Химическая кастрация подсолнечника. *Доклады Всесоюзной академии сельскохозяйственных наук имени В.И. Ленина*. 1967(2):17-18).
- 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. [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., Karabitsina Yu.I., Alpatieva N.V., Kusnetsova E.B., Titov N.V., Lyutko A.Yu., Gavrilova V.A. Diagnostic value of *Rfl* gene molecular markers in sunflower. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(2):28-37. [in Russian]. (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 *Rfl* подсолнечника. *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(2):28-37). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-2-03
- Antonova T.S., Ivebor M.V., Rozhkova V.T., Araslanova N.P., Gavrilova V.A. Results of evaluation of accessions from the VIR sunflower collection for resistance to downy mildew strains spread in the Krasnodar Territory. *Bulletin of Applied Botany, of Genetics, and Plant Breeding*. 2011;167:90-95. [in Russian] (Антонова Т.С., Ивбор М.В., Рожкова В.Т., Арасланова Н.П., Гаврилова В.А. Результаты оценки образцов подсолнечника коллекции ВИР на устойчивость к расам возбудителя ложной мучнистой росы, распространенным в Краснодарском крае. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2011;167:90-95).
- Arias D.M., Rieseberg L.H. Genetic relationship among domesticated and wild sunflower (*Helianthus annuus*, Asteraceae). *Economic Botany*. 1995;49:239-248.
- Baute G.J., Kane N.C., Grassa C.J., Lai Z., Rieseberg L.H. Genome scans reveal candidate domestication and improvement genes in cultivated sunflower, as well as post-domestication introgression with wild relatives. *New Phytologist*. 2015;206:830-838. DOI: 10.1111/nph.13255
- Berry S.T., Leon A.J., Hanfrey C.C., Challis P., Burkholz A., Barnes S.J., Rufener G.K., Lee M., Caligari P.D.S. Molecular-marker analysis of *Helianthus annuus* L. II. Construction of an RFLP linkage map for cultivated sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*. 1995;91:195-199. DOI: 10.1007/BF00220877
- Bochkovoy A.D., Khatnyansky V.I., Kamardin V.A. Types of sunflower hybrids and features of their use in conditions of the Russian Federation (review). *Oil Crops*. 2019;1(177):110-123. [in Russian] (Бочковой А.Д., Хатнянский В.И., Камардин В.А. Типы гибридов подсолнечника и особенности их использования в условиях Российской Федерации. *Масличные культуры*. 2019;1(177):110-123. DOI: 10.25230/2412-608X-2019-1-177-110-123
- 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
- Cheres M.T., Knapp S. Ancestral origins and genetic diversity of cultivated sunflower: coancestry analysis of public germplasm. *Crop Science*. 1998;38:1476-1482. DOI: 10.2135/cropsci1998.0011183X003800060012x
- Dakin E.E., Avise J.C. Microsatellite null alleles in parentage analysis. *Heredity*. 2004;93(5):504-509. DOI: 10.1038/sj.hdy.6800545
- Darvishzadeh R., Azizi M., Hatami-Maleki H., Bernousi I., Abdolla-

- hi Mandoulakani B., Jafari M., Sarrafi A. Molecular characterization and similarity relationships among sunflower (*Helianthus annuus* L.) inbred lines using some mapped simple sequence repeats. *African Journal of Biotechnology*. 2010;9(43):7280-7288. DOI: 10.5897/AJB10.902
- Dimitrijević A., Imerovski I., Miladinović D., Tančić S., Dušanić N., Jocić S., Miklič V. Use of SSR markers in identification of sunflower isogenic lines in late generations of backcrossing. *Helia*. 2010;33(53):191-198. DOI: 10.2298/HEL1053191D
- Duca M., Port A., Šestacova T., Siniauskaya M., Aksyonova E., Davydenko O. Microsatellite marker application in sunflower (*Helianthus annuus* L.) fingerprinting. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. 2013;27(3):3772-3775. DOI: 10.5504/BBEQ.2013.0021
- Filippi C.V., Aguirre N., Rivas J.G., Zubrzycki J., Puebla A., Cordes D., Moreno M.V., Fusari C.M., Alvarez D., Heinz R.A., Hopp H.E., Paniego N.B., Lia V.V. Population structure and genetic diversity characterization of a sunflower association mapping population using SSR and SNP markers. *BMC Plant Biology*. 2015;15:52. DOI: 10.1186/s12870-014-0360-x
- Filippi C.V., Gabriela A., Merino G.A., Montecchia J.F., Aguirre N.C., Rivarola M., Naamati G., Fass M.J., Álvarez D., Rienzo J.D., Heinz R.A., Moreira B.C., Lia V.V., Paniego N.B. Genetic diversity, population structure and linkage disequilibrium assessment among international sunflower breeding collections. *Genes*. 2020;11:283. DOI: 10.3390/genes11030283
- Galinskaya T.V., Schepetov D.M., Lysenkov S.N. Prejudices against microsatellite studies and how to resist them. *Russian Journal of Genetics*. 2019;55(6):657-671. DOI: 10.1134/S1022795419060048
- Garayalde A.F., Poverene M., Cantamutto M., Carrera A.D. Wild sunflower diversity in Argentina revealed by ISSR and SSR markers: an approach for conservation and breeding programmes. *Annals of Applied Botany*. 2011;158(3):305-317. DOI: 10.1111/j.1744-7348.2011.00465.x
- 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: VIR; 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*. Санкт-Петербург: ВИР, 2005. С.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
- Gentzmittel L., Vear F., Zhang Y.-X., Berville A., Nicolas P. Development of a consensus linkage RFLP map for cultivated sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*. 1995;90:1079-1086.
- Hongtrakul V., Huestis G.M., Knapp S. Amplified fragment length polymorphisms as a tool for DNA fingerprinting sunflower germplasm: genetic diversity among oilseed inbred lines. *Theoretical and Applied Genetics*. 1997;95(3):400-407. DOI: 10.1007/s001220050576
- 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
- Imerovski I., Dimitrijević A., Miladinović D., Jocić S., Dedić B., Cvejić S., Surlan-Momirović G. Identification and validation of breeder-friendly DNA markers for *Plarg* gene in sunflower. *Molecular Breeding*. 2014;34(3):779-788. DOI: 10.1007/s11032-014-0074-7
- Leclercq P. Une sterilité cytoplasmique chez le tournesol. *Annales de l'Amélioration des Plantes*. 1969;19(2):99-106. [in French]
- Li J.T., Yang J., Chen D.C., Zhang X.L., 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.
- Karabitsina Yu.I., Anisimova I.N., Gavrilova V.A., Alpatieva N.V., Pinaev A.G., Kuznetsova E.B., Rozhkova V.T. Molecular marking of sunflower lines with different ability to suppression of the cytoplasmic male sterility phenotype. *Proceedings on Applied Botany, Genetics, and Breeding*. 2016;177(2):99-107. [in Russian] (Карабицина Ю.И., Анисимова И.Н., Гаврилова В.А., Алпатьева Н.В., Пинаев А.Г., Кузнецова Е.Б., Рожкова В.Т. Молекулярное маркирование линий подсолнечника, различающихся по способности к супрессии фенотипа цитоплазматической мужской стерильности. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2016;177(2):99-107). DOI: 10.30901/2227-8834-2016-2-99-107
- 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* – воснованителя 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
- Mwangi E.W., Marzougui S., Sung J.S., Bwalya E.C., Choi Y.-M., Lee M.-C. Assessment of genetic diversity and population structure on Kenyan sunflower (*Helianthus annuus* L.) breeding lines by SSR markers. *Korean Journal of Plant Resources*. 2019;32(3):244-253. DOI: 10.7732/kjpr.2019.32.3.244
- Paniego N., Echaide M., Munoz M., Fernandez L., Torales S., Faccio P., Fuxan I., Carrera M., Zandomeni R., Suarez E.Y., Hopp H.E. Microsatellite isolation and characterization in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Genome*. 2002;45(1):34-43. DOI: 10.1139/g01-120
- Rozhkova V.T., Anashchenko A.V. Creation of self-pollinated lines and heterotic hybrids of sunflower on the basis of global collection. *Research Bulletin of the N.I. Vavilov Institute of Plant Industry*. 1977;69:53-55. [in Russian] (Рожкова В.Т., Анащенко А.В. Создание самоопыленных линий и гетерозисных гибридов подсолнечника на материале мировой коллекции. *Научно-технический бюллетень Всесоюзного научно-исследовательского института растениеводства им. Н.И. Вавилова*. 1977;69:53-55).
- Şahin E., Kalenderoğlu A., Aydın 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
- Solodenko A.Ye., Fait V.I. Identification of sunflower hybrids with markers of resistance to downy mildew gene *Plarg*. *Fiziologiya rastenij i genetika = Plant Physiology and Genetics*. 2017;49(6):506-512. [in Ukrainian] (Солоденко А.Е., Файт В.І., Ідентифікація генотипів соняшника гібридного походження за маркерами гена *PLARG* стійкості до несправжньої борошнистої роси. *Фізіологія рослин і генетика*. 2017;49(6):506-512). DOI: 10.15407/frg2017.06.506
- Sujatha M., Prabakaran A.J., Dwivedi S.L., Chandra S. Cytomorphological and molecular diversity in backcross-derived inbred lines of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Genome*. 2008;51(4):282-293. DOI: 10.1139/G08-008
- 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
- Wieckhorst S., Bachlava E., Dußle C.M., Tang S., Gao W., Sasaki C., Bauer E. Fine mapping of the sunflower resistance locus *Plarg* introduced from the wild species *Helianthus argophyllus*. *Theoretical and Applied Genetics*. 2010;121(8):1633-1644. DOI: 10.1007/s00122-010-1416-4
- 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
- Zia Z.U., Sadaqat H.A., Tahir M.H.N., Sadia B., Bushman B.S., Hole D., Michaels L., Malik W. Estimation of genetic diversity using SSR markers in sunflower. *Russian Journal of Genetics*. 2014;50:498-507. DOI: 10.7868/s0016675814050142



# МОЛЕКУЛЯРНЫЙ СКРИНИНГ СОРТОВОЙ КОЛЛЕКЦИИ ЗЕМЛЯНИКИ ВИР НА НАЛИЧИЕ МАРКЕРА ГЕНА УСТОЙЧИВОСТИ К АНТРАКНОЗНОЙ ЧЕРНОЙ ГНИЛИ *Rca2*

Храбров И. Э.<sup>1\*</sup>, Антонова О. Ю.<sup>1</sup>, Шаповалов М. И.<sup>2,3</sup>, Семенова Л. Г.<sup>2</sup>

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

\* ivan.khrabrov95@mail.ru

<sup>2</sup>Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, Майкопская опытная станция – филиал ВИР, 385746 Россия, Республика Адыгея, Подгорный, ул. Научная, 1

<sup>3</sup>Адыгейский государственный университет, 385016 Россия, Республика Адыгея, г. Майкоп, ул. Первомайская, 208

**Актуальность.** К числу крайне вредоносных заболеваний земляники в условиях юга России в последние годы относится антракнозная черная гниль, вызываемая фитопатогенным грибом *Colletotrichum acutatum* Simmonds. Заболевание распространено по всему миру, относительно недавно оно появилось в России. Потери от него достигают до 80% урожая, кроме того, патоген вызывает значительные выпадения растений в маточных насаждениях. Наиболее надежной защитой от патогена является выращивание устойчивых сортов. У земляники устойчивость контролируется разными генами, в частности, геном *Rca2*. Для выявления данного гена разработаны молекулярные маркеры STS\_*Rca2*\_240 и STS-*Rca2*\_417. Задачей нашего исследования было использование данных маркеров для скрининга коллекции сортов земляники садовой ВИР, поддерживаемой на Майкопской опытной станции. **Материал и методы.** В работе изучено 135 сортов *Fragaria* × *ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier, 83 отечественных и 52 зарубежных. В число отечественных сортов входили 17 сортов, созданных на Майкопской ОС. Растения были оценены на наличие полевой устойчивости к антракнозу в условиях Республики Адыгея в период с 2018 по 2021 год. Молекулярный скрининг проводили при помощи двух молекулярных маркеров, тесно сцепленных с геном *Rca2*: STS\_*Rca2*\_240 и STS-*Rca2*\_417. Для контроля эффективности ПЦР использовали микросателлитные праймеры EMFv020. Положительным контролем служил сорт ‘Сударушка’, у которого наличие маркерного фрагмента STS\_*Rca2*\_240 описано в литературе. **Результаты и обсуждение.** Диагностический фрагмент 240 пн маркера *Rca2*\_240 был выявлен у 22 сортов выборки. Среди отечественных сортов частота встречаемости маркера составила 18,1%, в выборке иностранных сортов она была несколько ниже – 13,0%. Из 17 сортов майкопской селекции маркер был выявлен у трех: ‘Майкопская ранняя’, ‘Пэрыг’, и ‘Шапсугская’. Ассоциация диагностического фрагмента с устойчивостью составила 73,0%. Не очень высокая эффективность маркера была связана с наличием значительного количества устойчивых сортов, не генерирующих диагностических фрагментов; устойчивость таких сортов может обеспечиваться работой других генов, например, *FarCal*. Маркер STS-*Rca2*\_417 при скрининге оказался неэффективным. **Заключение.** В коллекции ВИР, поддерживаемой на Майкопской ОС, было выявлено 22 сорта с маркером гена *Rca2*, 16 из которых обладали полевой устойчивостью к *C. acutatum* второй группы патогенности. Эти сорта представляют ценный материал для селекции. Наличие маркера STS-*Rca2*\_240 может выступать в роли ценного диагностического признака при паспортизации сортов.

**Ключевые слова:** *Fragaria* × *ananassa*, сорта земляники, полевая устойчивость, *Colletotrichum acutatum*

## Для цитирования:

Храбров И.Э., Антонова О.Ю., Шаповалов М.И., Семенова Л.Г. Молекулярный скрининг сортовой коллекции земляники ВИР на наличие маркера гена устойчивости к антракнозной черной гнили *Rca2*. *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(4):15-24. DOI: 10.30901/2658-6266-2021-4-03

**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/10.30901/2658-6266-2021-4-03> **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 ВИР согласно тематическому плану НИР по темам 0481-2019-0002 «Изучение генетических ресурсов культурных растений, их диких родичей и форм собственной селекции при помощи комплекса современных методов ДНК-диагностики» и 0662-2019-0004 «Коллекции вегетативно размножаемых культур (картофель, плодовые, ягодные, декоративные, виноград) и их диких родичей ВИР – изучение и рациональное использование».

---

# MOLECULAR SCREENING OF THE VIR STRAWBERRY VARIETY COLLECTION FOR THE PRESENCE OF A MARKER FOR THE ANTHRACNOSE BLACK ROT RESISTANCE GENE *Rca2*

Khrabrov I. E.<sup>1\*</sup>, Antonova O. Yu.<sup>1</sup>, Shapovalov M. I.<sup>2,3</sup>, Semenova L. G.<sup>2</sup>

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

\* ✉ ivan.khrabrov95@mail.ru

<sup>2</sup>N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, Maikop Experiment Station of VIR  
1 Nauchnaya Street, Maikop 385746, Russia

<sup>3</sup> Adyghe State University,  
208 Pervomayskaya Street, Maykop, Republic of Adygea 385016, Russia

**Background.** Anthracnose black rot caused by the phytopathogenic fungus *Colletotrichum acutatum* Simmonds became an extremely harmful disease of strawberries in Southern Russia. The disease is widespread throughout the world, and relatively recently it appeared in Russia. Yield losses due to the disease reach up to 80%; besides, the pathogen causes significant plant losses in mother plantations. The most reliable protection against the pathogen is the cultivation of resistant varieties. In strawberries, resistance is controlled by different genes, including *Rca2*. To identify this gene, molecular markers STS\_Rca2\_240 and STS-Rca2\_417 have been developed. The purpose of this study was to use the markers for screening the VIR collection of strawberry varieties at the VIR Maikop Experiment Station (Maikop ES VIR). **Material and methods.** The present work studied 135 varieties of *Fragaria* × *ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier, 83 domestic and 52 foreign ones. The domestic varieties included 17 created at the Maikop ES. Plants were evaluated for anthracnose field resistance in the Republic of Adygea from 2018 to 2021. Molecular screening was performed using STS\_Rca2\_240 and STS-Rca2\_417, the molecular markers closely linked to the *Rca2* gene. Microsatellite primers EMFv020 were used to control the PCR efficiency. The cultivar ‘Sudarushka’, in which the presence of STS\_Rca2\_240 marker was described in the literature, served as a positive control. **Results and discussion.** The marker Rca2\_240 was detected in 22 cultivars from 135 studied. Among domestic varieties, the frequency of the marker was 18.1%, while among the foreign varieties it was slightly lower and amounted to 13.0%. Among the 17 varieties created at the Maikop SE, the marker was found in three: ‘Majkopskaya rannyaya’, ‘Peryt’, and ‘Shapsugskaya’. The association of the diagnostic fragment with resistance was 73.0%. The marker efficiency was not very high due to the significant number of resistant varieties which do not generate the diagnostic fragments. The resistance in such varieties can be provided by other genes, for example, *FaRca1*. The STS-Rca2\_417 marker was not efficient during screening. **Conclusion.** Twenty-two varieties with the STS\_Rca2\_240 marker were identified in the VIR collection, maintained at the Maikop ES VIR, 16 of which were resistant to *C. acutatum*. These varieties represent a valuable breeding material. The STS-Rca2\_240 marker can be used as an important diagnostic trait for the certification of varieties.

**Key words:** *Fragaria* × *ananassa*, strawberry varieties, resistance, fungal diseases, *Colletotrichum acutatum*

## For citation:

Khrabrov I.E., Antonova O.Yu., Shapovalov M.I., Semenova L.G. Molecular screening of the VIR strawberry varieties collection for the presence of a marker for the anthracnose black rot resistance gene *Rca2*. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(4):15-24. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-4-03

**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/10.30901/2658-6266-2021-4-03> **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:

Khrabrov I.E. <https://orcid.org/0000-0002-1877-9468>

Antonova O.Yu. <https://orcid.org/0000-0001-8334-8069>

Shapovalov M.I. <https://orcid.org/0000-0002-5351-2873>

Semenova L.G. <https://orcid.org/0000-0001-6266-1339>

УДК [634.75:631.526.32]:[631.524.86:632.4]:575.116(470.621-25)

Поступила в редакцию: 20.12.2021

Принята к публикации: 28.12.2021

---

**Acknowledgments:** The article was prepared as part of the VIR State Assignment in accordance with the R&D Thematic Plan, Topics No. 0481-2019-0002 “Study of genetic resources of cultivated plants, their wild relatives and created forms using a complex of modern methods of DNA diagnostics” and No. 0662-2019-0004 “VIR Collections of vegetatively propagated crops (potatoes, fruits, berries, ornamental crops, grapes) and their wild relatives; their study and rational use”.

## Введение

Земляника садовая *Fragaria* × *ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier является одной из самых рентабельных и экономически выгодных ягодных культур в мире, на ее долю приходится до 2/3 объема мирового производства ягод. В южных регионах России, в том числе и на Северном Кавказе, она занимает ведущее место (Holod et al., 2018).

Потенциал продуктивности земляники ананасной очень высок. По мнению отечественных ученых, он может достигать 112 т/га (Popova et al., 1990). Однако реальная урожайность намного ниже. Средняя урожайность в мире составляет 12,8 т/га, тогда как в США – 37,1, Испании – 37,7, Японии – 12,8 (Pshikhacheva, 2012), в России – 6-8 т/га (Govorova, Govorov, 2019). Главным фактором, оказывающим отрицательное влияние на урожайность земляники, является поражение растений различными грибными инфекциями. К их числу относится антракнозная черная гниль, которая может в некоторых случаях приводить к потерям до 80% урожая (Metlitsky et al., 2007).

Болезнь вызывается несколькими видами грибов-аскомицетов рода *Colletotrichum* Corda, семейство *Melanconiaceae*: *C. fragariae* Brooks, *C. gloeosporioides* Penz. (Sacc.) Ston и *C. acutatum* Simmonds (Kotova, Kungurtseva, 2014; Govorova, Govorov, 2019). Наибольшей вредоносностью в условиях умеренного континентального климатического пояса, к которому относится Республика Адыгея, обладает вид *C. acutatum* (Holod et al., 2018).

В России заболевание впервые отмечено в 2003 году в Подмосковье и в Краснодарском крае (Metlitsky et al., 2007). С каждым годом распространение болезни увеличивается, чему способствует массовый завоз зарубежного посадочного материала (Holod et al., 2012; Holod et al., 2018). Для южного региона России, который отличается более теплым и влажным климатом, проблема поражения антракнозом особенно актуальна. Высокая температура в сочетании с высокой влажностью воздуха создают в нижнем ярусе, где произрастает земляника, парниковый эффект, который влияет на увеличение интенсивности поражения грибными фитопатогенами. Следует отметить, что химические обработки не всегда эффективно защищают посадки земляники от антракноза. Поэтому наилучшим способом защиты является выращивание устойчивых сортов (Kotova, Kungurtseva, 2014).

Селекция земляники на устойчивость к антракнозу ведется во многих странах мира (Maas, 1984), однако большинство сортов земляники в разной степени восприимчивы к *C. Acutatum*. При этом реакция растений может резко изменяться в разные годы в различных климатических условиях, и зависит также от расы патогена (Metlitsky et al., 2007).

Изоляты *C. acutatum* принято относить к двум группам патогенности. Устойчивость к расам первой группы

в работах одних авторов охарактеризована как контролируемая полигенно (Denoyes-Rothan et al., 2004), однако последующее использование методов ДНК-микрочипирования и GWAS-анализа позволило выявить на хромосоме 6В один основной локус *FarCal* (Salinas et al., 2019). Изменчивость по локусу *FarCal* объясняла по меньшей мере 50% фенотипической изменчивости по признаку устойчивости к *C. acutatum*.

Моногенная устойчивость у земляники выявлена к расам *C. acutatum* второй группы патогенности. Она контролируется доминантным геном *Rca2* (Guérin et al., 2003; Lerceteau-Köhler et al., 2005), для детекции которого были разработаны маркеры STS-Rca2\_240 и STS-Rca\_417. Эффективность этих маркеров некоторыми авторами оспаривается (Miller-Butler et al., 2019), однако они достаточно активно используются как зарубежными, так и отечественными исследователями для скрининга коллекций (Lerceteau-Köhler et al., 2005; Njuguna, 2010; Sturzeanu et al., 2017; Lukuanchuk et al., 2018; Lyzhin et al., 2019; 2020; Khrabrov et al., 2019).

Целью нашей работы было провести изучение коллекции земляники ВИР, поддерживаемой на Майкопской опытной станции ВИР (МОС ВИР), для выявления сортов с маркерами гена *Rca2*.

## Материал и методы

Материалом для молекулярного скрининга послужили 135 образцов земляники садовой из коллекции МОС ВИР. В выборку входили 83 сорта отечественной селекции (Россия и Республики бывшего СССР), из которых 64 образца российской селекции ('Абдзехская', 'Алая', 'Алая МОС ВИР', 'Ананасная поздняя', 'Аэлита', 'Батыр', 'Бирюлёвская ранняя', 'Бэрчэт', 'Великан', 'Весенняя Кубани', 'Веснянка', 'Восток', 'Восход', 'Галочка', 'Гама', 'Деснянка кокинская', 'Дружба', 'Елшанка', 'Зарница', 'Итурупская', 'Кокинская ранняя', 'Красавица Загорья', 'Кремлевская', 'Кубанка', 'Кубанская ранняя (Вымпел)', 'Лаба', 'Лада', 'Ленинградская', 'Ленинградская поздняя', 'Луч ВИРа', 'Любимица', 'Любовь Поволжья', 'Марсианка', 'Мысовка', 'Нальмэс', 'Нарядная', 'Обильная', 'Оштен', 'Павловская Красавица', 'Памятная', 'Память Гагарина', 'Память Комарова', 'Персиковая', 'Пионерка', 'Подарок весны', 'Предгорная МОС ВИР', 'Приусадебная', 'Пэрыт', 'Россиянка', 'Сахалинская ремонтантная', 'Светлана', 'Сердце гор', 'Сюрприз', 'Тамбовчанка', 'Ударница', 'Утренняя звезда', 'Фестивальная', 'Фишт', 'Чернобривка', 'Шапсугская', 'Шунтукская №6', 'Южанка', '50 лет Октября'), 11 сортов украинской селекции ('Галичанка', 'Запашна', 'Львовская ранняя', 'Мелитопольская крупноплодная', 'Мелитопольская ранняя', 'Мелитопольская урожайная №3', 'Мелитопольская ароматная', 'Неслуханка', 'Приазовская', 'Сувенир', 'Техническая'), четыре белорусских сорта ('Аврора', 'Дарница', 'Лявониха', 'Чайка'), а также два сорта из Молдавской ССР

(‘Кишиневская’, ‘Молдаванка’) и два сорта из Узбекской ССР (‘Дильбар’, ‘Южанка САС ВИР’). Среди российских сортов особое внимание мы уделили 17 сортам, созданным на Майкопской ОС ВИР (выделены в тексте жирным шрифтом).

В работу были также включены 52 образца иностранной селекции, из которых 25 сортов селекции США (‘Albritton’, ‘Aroma’, ‘Blakemore’, ‘Catskill’, ‘Clermont’, ‘Climax’, ‘Culver’, ‘Earlibelle’, ‘Empire’, ‘Fairfax’, ‘Fresno’, ‘Gem’, ‘Gerseybelle’, ‘Haverland’, ‘Holiday’, ‘Honeoye’, ‘Hood’, ‘Midland’, ‘Red Chief’, ‘Sequoia’, ‘Sharpless’, ‘Solana’, ‘Stelemaster’, ‘Success’, ‘Surecrop’); 8 сортов из Германии (‘German’, ‘Lucida Perfecte’, ‘Macherauchs Marieva’, ‘Mieze Schindler’, ‘Roter Diamant’, ‘Senga Sengana’, ‘Spate von Leopoldshall’, ‘Worck’s Volltragende = Ворка плодородная’); 8 – из Великобритании (‘Cambridge Favourite’, ‘Cambridge Vigour’, ‘Merton Rosy’, ‘Malling Pandora’, ‘Pegasus’, ‘Red Gauntlet’, ‘Talisman, Victoria’); 6 – из Канады (‘Cavalier’, ‘Grenadier’, ‘Guardman’, ‘Protom’, ‘Redcoat’, ‘Vibrant’); два из Голландии (‘Glassa’, ‘Gorella’); а также по одному сорту из Франции, Италии и Японии – ‘Mount Everest’, ‘Roxana’, ‘Tsunaki’ соответственно (Приложение 1 / Supplement 1<sup>1</sup>).

Для каждого образца проводили независимую экстракцию ДНК из двух растений. Кроме того, в случае выявления у образца диагностических фрагментов маркера, проводили повторное выделение из заново отобранного материала. Следует отметить, что результаты первого и повторного анализов полностью совпали.

В качестве положительного контроля при проведении молекулярного скрининга использовали сорт ‘Сударушка’ (‘Roxana’ × ‘Фестивальная’), для которого в литературе было ранее показано присутствие диагностического фрагмента маркера Rca2\_240 гена *Rca 2* (Lyzhin et al., 2019).

**Оценка полевой устойчивости к антракнозу.** Основной экспериментальный материал для исследований получен путем фитосанитарного мониторинга коллекции генетических ресурсов земляники ВИР МОС в 2019-2021 годах на естественном инфекционном фоне, без химических обработок, в период массового созревания плодов (начало-середина июня). Была использована стандартная методика выявления и учета болезней ягодных культур – визуальный учёт (рис. 1) антракнозной черной гнили на плодах (Metlitsky, 2005).



**Рис. 1. Устойчивые и поражаемые антракнозом сорта садовой земляники из коллекции, созданной на Майкопской ОС - филиале ВИР**

А – ‘Malling Pandora’; Б – ‘Cambridge Favourite’; В – ‘Фестивальная’; Г – ‘Honeoye’

**Fig. 1. Anthracnose resistant and susceptible strawberry varieties from the VIR collection created at the Maikop ES - VIR Branch**

А – ‘Malling Pandora’; Б – ‘Cambridge Favourite’; В – ‘Festivalnaya’; Г – ‘Honeoye’

<sup>1</sup> Приложение доступно в онлайн версии статьи / Supplement is available in the online version of the paper at: <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-4-03>

**Выделение ДНК.** Для получения препаратов ДНК использовали молодые листья полевых растений, собранные на делянках МОС ВИР. Молодые листья содержат меньшие количества запасных веществ и вторичных метаболитов.

ДНК выделяли модифицированным методом СТАВ-экстракции (Antonova et al., 2020). Навеску растительной ткани растирали в жидком азоте, добавляли 2 × СТАВ-буфер [100 мМ трис-НСl, рН=8,0; 2 М NaCl; 20 мМ ЭДТА; 2% СТАВ; 1,5% β-меркаптоэтанол, 1% поливинилпирролидон] и проводили экстракцию ДНК в течение полутора-двух часов при температуре 65°C. В данной модификации буфера по сравнению со стандартным протоколом повышены концентрации хлорида натрия до 2 М и β-меркаптоэтанола до 1,5%, что позволяет более эффективно избавляться от окисленных полифенолов и других метаболитов. К лизату добавляли метабисульфит натрия до конечной концентрации 1,5% и равный объем смеси хлороформ/изоамиловый спирт (в соотно-

шении 24:1 v/v). Пробирки инвертировали в течение 45 минут при комнатной температуре и затем центрифугировали при комнатной температуре (10000 об/мин, 25°C, 15 минут). Водную фазу отбирали в чистые пробирки, добавляли равный объем предварительно охлажденного изопропилового спирта, перемешивали и оставляли при -20°C в течение ночи. Сформированный осадок собирали центрифугированием (10000 об/мин, 4°C), однократно промывали в 80% этиловом спирте, растворяли в одном мл буфера ТЕ (рН=8,0) и переосаждали в изопропиловом спирте с добавлением 0,3 М ацетата натрия (рН=5,2). Осадок промывали три раза по 20 минут в 80% этиловом спирте, высушивали на воздухе и окончательно растворяли в буфере ТЕ.

**ПЦР и электрофорез.** Маркеры для проведения молекулярного скрининга на наличие доминантных аллелей гена *Rca2* (устойчивость к антракнозу) были подобраны по литературным источникам (табл. 1).

**Таблица 1. Используемые в работе маркеры гена устойчивости *Rca2***

**Table 1. DNA markers linked to the *Rca2* gene and used in this study**

Ген / Gene	Маркер / Marker	Нуклеотидная последовательность праймеров / Primer sequences (5' → 3')	Размер целевых фрагментов (пн) / size of the target sequence (bp)
<i>Rca2</i>	STS_Rca2_240	F: GCCACGTCAGTCAAATTCAA R: TCATGGACAGTGGTCTCAGC	240
	STS-Rca2_417	F: ACCATGCAGAACGTTTCAGATAT R: TCCCAGCTGAAGATCAATGTAGT	417
контроль ПЦР	EMFv020	F: CAGGCGCCAACGGCGTGCTCTTGT R: CAGCGCCGCGCTCATCCCTAGG	170

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) осуществляли в реакционной смеси, объемом в 20 мкл, следующего состава: 40 нг общей ДНК земляники, 1 × реакционный буфер, 2,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,4 мМ каждого из dNTP's, по 0,25 мкМ прямого и обратного праймеров и 1 ед. Taq-полимеразы (Диалат, Москва). Условия ПЦР соответствовали указанным в литературных источниках (Lerceteau-Köhler et al., 2005). Реакцию проводили в 2-4 повторностях.

В качестве положительного контроля использовали пару праймеров для микросателлитного маркера EMFv020. В качестве отрицательного контроля использовали воду. Для определения размера фрагментов использовали маркеры молекулярного веса «50 пн» и «100 пн+» (Евроген, Москва).

Разделение полученных ПЦР-продуктов проводили

с помощью электрофореза в 2% агарозном геле в буфере TBE. Гели окрашивали бромистым этидием. Визуализацию результатов проводили в проходящем УФ свете (рис. 2,3) при помощи системы фиксации изображений GelDocXR (BioRad Laboratories, USA).

Информация об аллельном составе локусов была занесена в электронную базу данных в формате Microsoft Excel-2016. Наличие у данного генотипа диагностического фрагмента обозначали цифрой «1», отсутствие – цифрой «0».

**Статистическая обработка результатов.** Для сопоставления частот встречаемости маркеров в выборках отечественных и зарубежных сортов использовали критерий Стьюдента  $t = \frac{dp}{S_{dp}}$ , вычисленный для малых неравновеликих ( $n_1 \neq n_2$ ) выборок (Lakin, 1980).

Для выявления статистической связи между присутствием маркера и наличием устойчивости к антракнозу использовали точный тест Фишера (Fisher, 1922).

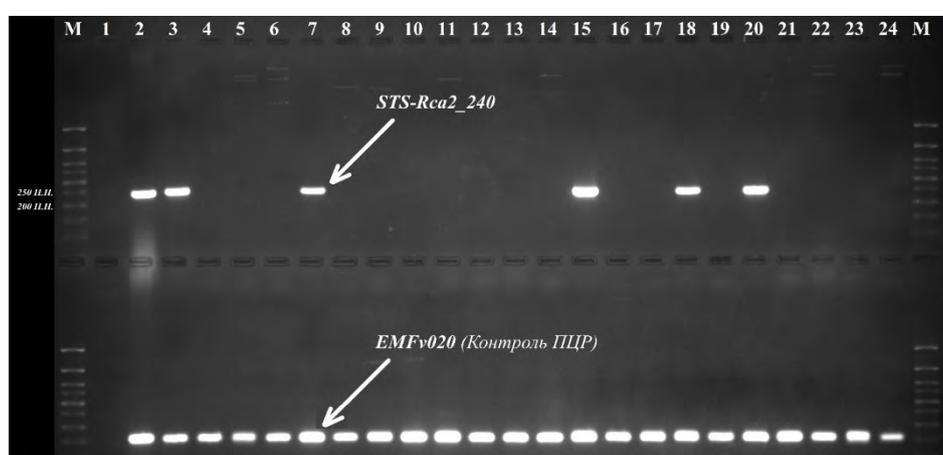
## Результаты и обсуждение

Диагностический фрагмент маркера Rca2\_240 был выявлен у 22 сортов выборки (рис. 2, табл. 2), в том числе у трех сортов селекции МОС ВИР – ‘Майкопская ранняя’, ‘Пэрыт’, и ‘Шапсугская’. Среди отечественных сортов частота встречаемости маркера составила 18,1% (15 из 83 изученных), в выборке иностранных сортов она была несколько ниже – 13,4% (7 из 52), однако выявленная разница оказалась статистически недостоверной при  $P \leq 0,01$  ( $t = 2,08 \leq t_{st} = 2,61$ , при  $k = 133$ ).

Пара праймеров для микросателлитного маркера

EMFv020, по литературным данным, давала продукты амплификации ДНК у всех изученных генотипов (Guérin et al., 2003; Lerceteau-Köhler et al., 2005; Lukuanchuk et al., 2018). В наших экспериментах реакция амплификации с использованием этих праймеров и всех изучаемых препаратов ДНК привела к образованию фрагментов ожидаемого размера (см. рис. 2), что позволило использовать маркер EMFv020 в качестве положительного контроля.

Результаты молекулярного скрининга образцов земляники были сопоставлены с данными анализа их полевой устойчивости к антракнозу, проведенного в 2018, 2019 и 2021 годах (см. Приложение 1 / Supplement 1). В качестве устойчивых рассматривали сорта, которые не проявляли признаков поражения в течение всех трех лет наблюдений.



**Рис. 2. ПЦР-продукты, полученные при амплификации ДНК сортов земляники с праймерами для STS-Rca2 240 и EMFv020. Последний был использован в качестве положительного контроля.**

1 – негативный контроль  $H_2O$ ; 2 – ‘Сударушка’; 3 – ‘Галочка’; 4 – ‘Кубанка’; 5 – ‘Светлана’; 6 – ‘Весенняя Кубани’; 7 – ‘Деснянка кокинская’; 8 – ‘Приусадебная’; 9 – ‘Guardzman’; 10 – ‘Climax’; 11 – ‘Hood’; 12 – ‘Gem’; 13 – ‘Solana’; 14 – ‘Albritton’; 15 – ‘Fresno’; 16 – ‘Aroma’; 17 – ‘Fairfax’; 18 – ‘Cambridge Favourite’; 19 – ‘Blakemore’; 20 – ‘Empire’; 21 – ‘Stelemaster’; 22 – ‘Midland’; 23 – ‘Catskill’; 24 – ‘Clermont’; M – маркер молекулярного веса «50 пп».

**Fig. 2. PCR products obtained during amplification of strawberry varieties’ DNA with primers for STS-Rca2\_240 and EMFv020. The latter was used as a positive control.**

1 – negative control  $H_2O$ ; 2 – ‘Sudarushka’; 3 – ‘Galochka’; 4 – ‘Kubanka’; 5 – ‘Svetlana’; 6 – ‘Vesennyaya Kubani’; 7 – ‘Desnyanka kokinskaya’; 8 – ‘Priusadebnaya’; 9 – ‘Guardzman’; 10 – ‘Climax’; 11 – ‘Hood’; 12 – ‘Gem’; 13 – ‘Solana’; 14 – ‘Albritton’; 15 – ‘Fresno’; 16 – ‘Aroma’; 17 – ‘Fairfax’; 18 – ‘Cambridge Favourite’; 19 – ‘Blakemore’; 20 – ‘Empire’; 21 – ‘Stelemaster’; 22 – ‘Midland’; 23 – ‘Catskill’; 24 – ‘Clermont’; M – molecular weight marker «50 bp».

Для ряда зарубежных сортов ('Albritton', 'Blakemore', 'Cambridge Favourite', 'Catskill', 'Earlibelle', 'Fairfax', 'Gorella', 'Grenadier', 'Holiday', 'Honeoye', 'Hood', 'Red Gauntlet', 'Red Chief', 'Senga Sengana', 'Sequoia', 'Stelemaster', 'Surecrop') и для отечественного сорта 'Фестивальная' молекулярный скрининг на наличие маркера Rca2\_240 был ранее проведен и другими исследователями (Sturzeanu et al., 2016; Njuguna, 2010; Miller-Butler et al., 2019; Lyzhin et al., 2019; Lukuanchuk et al., 2018; Lerceteau-Köhler et al., 2005). Для подавляющего большинства сортов наши результаты совпали с данными других авторов (Lerceteau-Köhler et al., 2005; Njuguna, 2010; Miller-Butler et al., 2019).

Наличие диагностического фрагмента 240 пн в целом коррелировало с устойчивостью, при анализе всей выборки в точном тесте Фишера (Fisher, 1922) значение *P* было

равно 0,00011, то есть гипотеза об отсутствии различий была отвергнута. Однако доля сортов, для которых прогноз оказался верным, то есть устойчивые генотипы характеризовались наличием маркера, а поражаемые его не имели, составила только 73,0%. Достаточно низкая эффективность маркера Rca2\_240 была связана с наличием значительного количества устойчивых сортов, не генерирующих диагностических фрагментов (см. табл. 2). Можно предположить, что устойчивость таких сортов обеспечивается работой других генов, например *FarCal*. Относительно недавно ген *FarCal* был картирован на хромосоме 6В (Salinas et al., 2019) и для него разработаны (Salinas et al., 2020) HRM-маркеры (High Resolution Melting, анализ кривых плавления с высоким разрешением), которые мы также планируем в дальнейшем использовать для скрининга нашей коллекции.

**Таблица 2. Результаты молекулярного скрининга сортов земляники коллекции ВИР, поддерживаемой на МОС - филиале ВИР, с использованием маркера STSRca2\_240 гена Rca2**

**Table 2. Results of molecular screening of strawberry varieties from the VIR collection at the Maykop ES using the Rca2 gene marker STSRca2\_240**

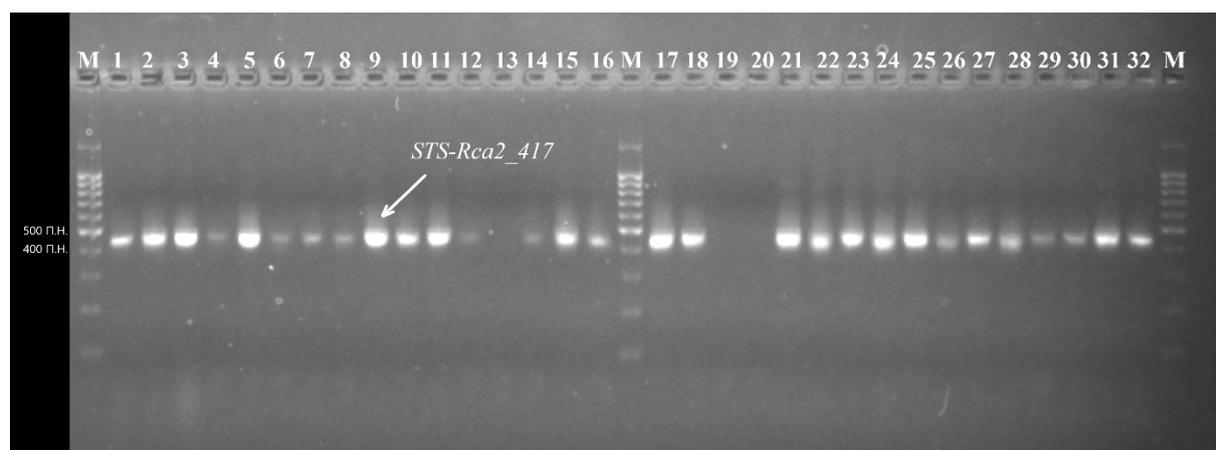
Наличие маркера/ The presence of STSRca2_240 marker	Число сортов/ Number of cultivars	Название сорта/ Cultivar name
+	22	<b>Устойчивые (n =16):</b> 'Ананасная поздняя', 'Восток', 'Галочка', 'Лаба', 'Любимица', 'Майкопская ранняя', 'Мелитопольская ароматная', 'Мелитопольская ранняя', 'Пэрыг', 'Россиянка', 'Шапсугская'; 'Cambridge Favourite', 'Culver', 'Empire', 'Malling Pandora', 'Roxana'. <b>Поражаемые (n =6):</b> 'Дильбар', 'Запашна', 'Память Гагарина', 'Сахалинская ремонтантная'; 'Fresno', 'Sequoia'.
-	113	<b>Устойчивые (n =31):</b> 'Алая', 'Батыр', 'Бэрчэт', 'Весенняя Кубани', 'Восход', 'Дарница', 'Деснянка кокинская', 'Дружба', 'Кишиневская', 'Кокинская ранняя', 'Луч ВИРа', 'Мелитопольская крупноплодная', 'Мелитопольская урожайная №3', 'Павловская Красавица', 'Предгорная МОС ВИР', 'Приусадебная', 'Светлана', 'Сувенир', 'Фестивальная', 'Чайка', 'Шунтукская № 6'; 'Cambridge Vigour', 'Gem', 'Haverland', 'Hood', 'Mieze Schindler', 'Mount Everest', 'Red Gauntlet', 'Solana', 'Talisman', 'Tsunaki'. <b>Поражаемые (n = 82):</b> '50 лет Октября', 'Абадзехская', 'Аврора', 'Алая МОС ВИР', 'Аэлига', 'Бирюлёвская ранняя', 'Великан', 'Веснянка', 'Галичанка', 'Гама', 'Елшанка', 'Зарница', 'Итурупская', 'Красавица Загорья', 'Кремлевская', 'Кубанка', 'Кубанская ранняя (Вымпел)', 'Лада', 'Ленинградская', 'Ленинградская поздняя', 'Львовская ранняя', 'Любовь Поволжья', 'Лявониха', 'Марсианка', 'Молдаванка', 'Мысовка', 'Нальмэс', 'Нарядная', 'Неслуханка', 'Обильная', 'Оштен', 'Памятная', 'Память Комарова', 'Персиковая', 'Пионерка', 'Подарок весны', 'Приазовская', 'Сюрприз', 'Тамбовчанка', 'Техническая', 'Ударница', 'Утренняя звезда', 'Фишт', 'Чернобровка', 'Южанка (Крымская ОС)', 'Южанка САС ВИР'; 'Albritton', 'Aroma', 'Blakemore', 'Catskill', 'Cavalier', 'Clermont', 'Climax', 'Earlibelle', 'Fairfax', 'German', 'Gerseybelle', 'Glassa', 'Gorella', 'Grenadier', 'Guardsman', 'Holiday', 'Honeoye', 'Lucida Perfecte', 'Macherauchs Marieva', 'Merton Rosy', 'Midland', 'Pegasus', 'Protém', 'Red Chief', 'Redcoat', 'Roter Diamant', 'Senga Sengana', 'Sharpless', 'Spate von Leopoldshall', 'Stelemaster', 'Success', 'Surecrop', 'Vibrant', 'Victoria', 'Worck's Volltragende (Ворка плодородная)'
ИТОГО/ TOTAL	135	

Исключение составили сорта ‘Fairfax’ и ‘Stelemaster’, которые в нашей работе генерировали маркер Rca2\_240, в то время как W. Njuguna (2010) у этих сортов данного маркера не выявил. Следует отметить, что сорта ‘Cambridge Favourite’, ‘Red Gauntlet’, ‘Red Chief’, ‘Sequoia’ и ‘Surecrop’ были изучены разными авторами с разными результатами, при этом наши данные совпали с полученными в одних работах и не совпали с другими. Например, сорт ‘Sequoia’ из коллекции ВИР, поддерживаемой на МОС - филиале ВИР, имел диагностический фрагмент 240 пн, что соответствовало данным М.А. Miller-Butler с соавторами (2019), однако в других публикациях (Lerceteau-Köhler et al., 2005; Njuguna, 2010) маркер STS-Rca2\_240 у этого сорта обнаружен не был. Более подробные сведения о сопоставлении результатов представлены в Приложении 1 / Supplement 1.

Поскольку с методологической точки зрения работа с праймерами STS-Rca2\_240 не представляет особых трудностей и ПЦР-продукты хорошо воспроизводятся

в повторностях опыта, следует полагать, что различия в результатах скрининга объясняются именно различиями сортового генетического материала, сохраняемого в различных коллекциях под одним и тем же названием.

В нашей работе частота встречаемости маркера у отечественных сортов (18,1%) оказалась значительно выше, чем в выборках, изученных другими авторами. Так, в публикациях А.С. Лыжина с соавторами (Lyzhin et al., 2019; 2020) маркер STSRca2\_240 был идентифицирован только у одного российского сорта ‘Сударушка’ из 32 проанализированных (суммарно по двум работам 3,1%). И.В. Лукьянчук с соавторами (Lukyanchuk et al., 2018) не выявили диагностического фрагмента маркера ни у одного из шести отечественных сортов. Таким образом, коллекционный материал, поддерживаемый на Майкопской станции, представляет значительный интерес как источник сортов, потенциально устойчивых к антракнозной черной гнили.



**Рис. 3. ПЦР-продукты, полученные при амплификации ДНК сортов земляники МОС ВИР с праймерами для маркера STS-Rca2\_417.**

1 – ‘Glassa’; 2 – ‘Веснянка’; 3 – ‘Glassa’; 4 – ‘Веснянка’; 5 – ‘Gerseybelle’; 6 – ‘Фишт’; 7 – ‘Gerseybelle’; 8 – ‘Фишт’; 9 – ‘Кокинская ранняя’; 10 – ‘Оштен’; 11 – ‘Кокинская ранняя’; 12 – ‘Оштен’; 13 – ‘Галичанка’; 14 – ‘Нальмэс’; 15 – ‘Нальмэс’; 16 – ‘Галичанка’; 17 – ‘Зарница’; 18 – ‘Абадзехская’; 19 – ‘Зарница’; 20 – ‘Абадзехская’; 21 – ‘Сердце гор’; 22 – ‘Майкопская ранняя’; 23 – ‘Сердце гор’; 24 – ‘Майкопская ранняя’; 25 – ‘Пэрыт’; 26 – ‘Шапсугская’; 27 – ‘Пэрыт’; 28 – ‘Шапсугская’; 29 – ‘Бэрчэт’; 30 – ‘Сударушка’; 31 – ‘Бэрчэт’; 32 – ‘Сударушка’;  
М – маркер молекулярного веса «100 bp+».

**Fig. 3. PCR products obtained during amplification of DNA from strawberry varieties in the VIR collection at the Maykop ES with primers for the STS-Rca2\_417 marker.**

1 – ‘Glassa’; 2 – ‘Vesnyanka’; 3 – ‘Glassa’; 4 – ‘Vesnyanka’; 5 – ‘Gerseybelle’; 6 – ‘Fisht’; 7 – ‘Gerseybelle’; 8 – ‘Fisht’; 9 – ‘Kokinskaya ranniyaya’; 10 – ‘Oshten’; 11 – ‘Kokinskaya ranniyaya’; 12 – ‘Oshten’; 13 – ‘Galichanka’; 14 – ‘Nal'mes’; 15 – ‘Nal'mes’; 16 – ‘Galichanka’; 17 – ‘Zarnica’; 18 – ‘Abadzekhskaya’; 19 – ‘Zarnica’; 20 – ‘Abadzekhskaya’; 21 – ‘Serdce gor’; 22 – ‘Majkopskaya ranniyaya’; 23 – ‘Serdce gor’; 24 – ‘Majkopskaya ranniyaya’; 25 – ‘Peryt’; 26 – ‘Shapsugskaya’; 27 – ‘Peryt’; 28 – ‘Shapsugskaya’; 29 – ‘Berchet’; 30 – ‘Sudarushka’; 31 – ‘Berchet’; 32 – ‘Sudarushka’;  
M – molecular weight marker “100 bp+”.

Для части сортов, имевших маркер гена *Rca2*, мы провели анализ родословных, чтобы проследить источник происхождения устойчивости. Например, сорт ‘Сударушка’ является гибридом ‘Фестивальная’ × ‘Roxana’. Сорт ‘Roxana’ был изучен в данном исследовании и действительно имел диагностический фрагмент 240 пн. Сорт ‘Malling Pandora’ [(‘von Humboldt’ × ‘Redstar’) ‘Merton Dawn’], согласно опубликованным данным, получил маркер от сорта ‘Redstar’ (Njuguna, 2010).

Все три сорта майкопской селекции (‘Майкопская ранняя’, ‘Пэрыт’, и ‘Шапсугская’), генерирующие диагностический фрагмент маркера, были созданы А.Г. Лазаревой в шестидесятые годы. В их родословных фигурируют устойчивые к заболеваниям гибриды ‘Earlidawn’ × ‘Md US 232’1 и ‘Surecrop’ × ‘US3919’, привезенные из США академиком П.М. Жуковским и зарегистрированные в ВИР под номерами интродукции и-228612 и и-228613 соответственно. Эти гибриды, до настоящего времени, не были изучены на наличие маркера гена *Rca2*. Сорта ‘Майкопская ранняя’ и ‘Пэрыт’ могли получить аллель устойчивости гена *Rca2* от другого родителя – сорта ‘Earlidawn’, для которого наличие маркера показано в работах W. Njuguna (Njuguna, 2010).

При скрининге образцов выборки на наличие аллелей гена *Rca2* нами был использован еще один маркер – STS-*Rca2*\_417 (см. рис. 3). Однако его диагностические фрагменты были выявлены у подавляющего большинства сортов выборки без какой-либо связи с устойчивостью. Поэтому данный маркер был признан неэффективным.

### Заключение

В результате молекулярного скрининга коллекции сортов земляники ВИР, поддерживаемой на Майкопской ОС - филиале ВИР, было выявлено 22 сорта с маркерами гена *Rca2*, контролирующего устойчивость к антракнозу второй группы патогенности. При этом сорта ‘Ананасная поздняя’, ‘Восток’, ‘Галочка’, ‘Лаба’, ‘Любимица’, ‘Майкопская ранняя’, ‘Мелитопольская ароматная’, ‘Мелитопольская ранняя’, ‘Пэрыт’, ‘Россиянка’, ‘Шапсугская’, ‘Cambridge Favourite’, ‘Culver’, ‘Empire’, ‘Malling Pandora’, ‘Roxana’ в условиях предгорной зоны Республики Адыгея на протяжении ряда лет демонстрировали полевую устойчивость к *S. acutatum*, что позволяет рекомендовать их в качестве перспективного источника устойчивости для селекции. В целом, маркер STS-*Rca2*\_240 показал хорошую эффективность в определении доминантной аллели гена *Rca2*. Достаточно низкая частота встречаемости маркера в сортовом материале земляники делает его ценным диагностическим признаком при разработке молекулярных паспортов.

### Литература / References

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

of modern Russian potato varieties using DNA samples of nomenclatural standards. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2020;3(4):77-96. [in Russian] (Антонова О.Ю., Клименко Н.С., Рыбаков Д.А., Фомина Н.А., Желтова В.В., Новикова Л.Ю., Гавриленко Т.А. SSR-анализ современных российских сортов картофеля с использованием ДНК номенклатурных стандартов. *Биотехнология и селекция растений*. 2020;3(4):77-96). DOI: 10.30901/2658-6266-2020-4-02

Denoyes-Rothan B., Lerceteau-Köhler E., Guérin G., Bosseur S., Bariac J., Martin E., Roudeillac P. QTL analysis for resistance to *Colletotrichum acutatum* and *Phytophthora cactorum* in octoploid strawberry (*Fragaria × ananassa*). *Acta Horticulturae*. 2004;663:147-152. DOI: 10.17660/ActaHortic.2004.663.19

Govorova G.F., Govorov D.N. Fungal diseases of strawberries (Грибные болезни земляники и клубники). Moscow: Prospekt; 2019. [in Russian] (Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н. Грибные болезни земляники и клубники. Москва: Проспект; 2019).

Guérin G., Lerceteau-Köhler E., Laigret F., Roudeillac P., Denoyes-Rothan B. Development of a SCAR marker linked to dominant gene conferring resistance to *Colletotrichum acutatum* in strawberry. *Acta Horticulturae*. 2003;626(626):85-91. DOI: 10.17660/ActaHortic.2003.626.10

Fisher R.A. On the interpretation of  $\chi^2$  from contingency tables, and the calculation of P. *Journal of the Royal Statistical Society*. 1922;85(1):87-94. DOI: 10.2307/2340521

Holod N.A., Kashchits Y.P., Dobrenkov E.A., Semenova L.G. Evaluation of stability of strawberry varieties to anthracnose black rot in the southern region. *Fruit Growing and Viticulture of South Russia*. 2018;51(3):140-148. [in Russian] (Холод Н.А., Кашиц Ю.П., Добренков Е.А., Семенова Л.Г. Оценка устойчивости сортов земляники садовой к антракнозной черной гнили в южном регионе. *Плодоводство и виноградарство юга России*. 2018;51(3):140-148). DOI: 10.30679/2219-5335-2018-3-51-140-148

Holod N.A., Yakovenko V.V., Semenova L.G. Isolation of strawberry varieties with complex resistance to mycoses for use in the breeding process. *Fruit growing and viticulture in the South of Russia*. 2012;18(6):80-88. [in Russian] (Холод Н.А., Яковенко В.В., Семенова Л.Г. Выделение сортов земляники с комплексной устойчивостью к микозам для использования в селекционном процессе. *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 2012;18(6):80-88).

Khrabrov I.E., Antonova O.Yu., Shapovalov M.I., Semenova L.G. Strawberry resistance to the major fungal phytopathogens: R-genes and their DNA markers. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2019;2(3):30-40. [in Russian] (Храбров И.Э., Антонова О.Ю., Шаповалов М.И., Семенова Л.Г. Устойчивость земляники к основным грибным фитопатогенам: R-гены и их ДНК-маркеры. *Биотехнология и селекция растений*. 2019;2(3):30-40). DOI: 10.30901/2658-6266-2019-3-03

Kotova V.V., Kungurtseva O.V. Anthracnose of agricultural plants. St. Petersburg: VIZR; 2014. [in Russian] (Котова В.В., Кунгурцева О.В. Антракноз сельскохозяйственных растений. Санкт-Петербург: ВИЗР; 2014).

Lakin G.F. Biometrics: a textbook for biological higher education institutions (Биометрия: учебное пособие для биологических специальностей высших учебных заведений). 3rd ed., revised and expanded. Moscow; 1980. [In Russian] (Лакин Г.Ф. Биометрия: учебное пособие для биологических специализированных вузов. 3-е изд., перераб. и доп. Москва; 1980).

Lerceteau-Köhler E., Guérin G., Denoyes-Rothan B. Identification of SCAR marker linked to *Rca2* anthracnose resistance gene and their assessment in strawberry germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*. 2005;111:862-870. DOI: 10.1007/s00122-005-0008-1

Lukyanchuk I.V., Lyzhin A.S., Kozlova I.I. Analysis of the genetic collection of strawberries (*Fragaria L.*) for the *Rca2* and *Rpfl* genes with molecular markers. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(7):795-799. [in Russian] (Лукианчук И.В., Лыжин А.С., Козлова И.И. Анализ генетической коллекции клубники (*Fragaria L.*) для генов *Rca2* и *Rpfl* с молекулярными маркерами. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2018;22(7):795-799). DOI: 10.18699/VJ18.423

- Lyzhin A.S., Luk'yanchuk I.V., Zhbanova E.V. DNA-analysis of genotypes of the genus *Fragaria* L. For anthracnose resistance. *Pomiculture and small fruits culture in Russia*. 2020;62:53-58. [in Russian] (Лыжин А.С., Лукьянчук И.В., Жбанова Е.В. ДНК-анализ генотипов рода *Fragaria* L. По устойчивости к антракнозной чёрной гнили. *Плодоводство и ягодоводство России*. 2020;62:53-58). DOI: 10.31676/2073-4948-2020-62-53-58
- Lyzhin A.S., Lukiyanchuk I.V., Zhbanova E.V. Polymorphism of the *Rca2* anthracnose resistance gene in strawberry cultivars (*Fragaria* × *ananassa*). *Proceedings on applied botany, genetics and breeding*. 2019;180(1):73-77. [in Russian] (Лыжин А.С., Лукьянчук И.В., Жбанова Е.В. Полиморфизм сортов земляники (*Fragaria* × *ananassa*) по гену устойчивости к антракнозу *Rca2*. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2019;180(1):73-77). DOI: 10.30901/2227-8834-2019-1-73-77
- Maas J.L. (ed.) Compendium of strawberry diseases. St. Paul (Minnesota, USA): American Phytopathological Society (APS) Publications; 1984.
- Miller-Butler M.A., Smith B.J., Kreiser B.R., Blythe E.K. Comparison of anthracnose resistance with the presence of two SCAR markers associated with the *Rca2* gene in strawberry. *HortScience*. 2019;54(5):793-798. DOI: 10.21273/HORTSCI113805-18
- Metlitsky O.Z., Zeynalov A.S., Undritsova I.A., Kholod N.A. Methodological guidelines for monitoring pests and diseases and a system of measures to combat them in mother and industrial plantations of strawberries (Metodicheskiye ukazaniya po monitoringu vreditel'ey i bolezney i sisteme mer borby s nimi v matochnykh i promyshlennykh nasazhdeniyakh zemlyaniki sadovoy). Moscow: ARHCBAN; 2005. [in Russian] (Метлицкий О.З., Зейналов А.С., Ундритцова И.А., Холод Н.А. Методические указания по мониторингу вредителей и болезней и системе мер борьбы с ними в маточных и промышленных насаждениях земляники садовой. Москва: ВСТИСП; 2005).
- Metlitsky O.Z., Golovin S.E., Undritsova I.A., Kholod N.A. Anthracnose of garden strawberries (Antraknoz sadovoy zemlyaniki). *Agro XXI*. 2007;(4-6):40-41. [in Russian] (Метлицкий О.З., Головин С.Е., Ундритцова И.А., Холод Н.А. Антракноз садовой земляники. *Agro XXI*. 2007;(4-6):40-41).
- Njuguna W. Development and use of molecular tools in *Fragaria*. Corvallis, Oregon, USA: Oregon State University; 2010.
- Popova I.V., Reznik S.M., Vereshchagina M.A. Results of strawberries breeding for resistance to powdery mildew in the conditions of the Non-Black Soil Belt of the RSFSR (Rezultaty selektsii zemlyaniki na ustojchivost k muchnistoj rose v usloviyakh Nechernozemnoy zony RSFSR). In: *Novoe v yagodovodstve Nechernozemya = New in berry growing in the Non-Black Soil Belt*. Moscow; 1990. p.13-25. [in Russian] (Попова И.В., Резник С.М., Верещагина М.А. Результаты селекции земляники на устойчивость к мучнистой росе в условиях Нечерноземной зоны РСФСР. В кн.: *Новое в ягодоводстве Нечерноземья*. Москва, 1990. С.13-25).
- Pshikhacheva Z.U. Sources for strawberry breeding for the traits of productivity and quality of berries [dissertation]. Krasnodar; 2012. [in Russian] (Пшихачева З.У. Источники для селекции земляники на признаки продуктивности и качества ягод: дис. канд. с.-х. наук. Краснодар; 2012). URL: <https://www.dissercat.com/content/istochniki-dlya-selektsii-zemlyaniki-na-priznaki-produktivnosti-i-kachestva-yagod> [дата обращения: 10.11.21].
- Salinas N., Fan Z., Peres N., Lee S., Whitaker V.M. FaRCa1 confers moderate resistance to the root necrosis form of strawberry anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum*. *HortScience*. 2020;55(5):693-698. DOI: 10.21273/HORTSCI114807-20
- Salinas N., Verma S., Peres N., Whitaker V.M. FaRCa1: a major subgenome-specific locus conferring resistance to *Colletotrichum acutatum* in strawberry. *Theoretical and Applied Genetics*. 2019;132:1109-1120. DOI: 10.1007/s00122-018-3263-7
- Sturzeanu M., Coman M., Ciuca M., Ancu I., Cristina D., Turcu A.G. Molecular characterization of allelic status of the *Rpf1* and *Rca2* genes in six cultivars of strawberries. *Acta Horticulturae*. 2016;1139:107-111. DOI: 10.17660/ActaHortic.2016.1139.19



# НОВЫЕ ИНТРОГРЕССИВНЫЕ ФОРМЫ КУЛЬТУРНОГО ЯЧМЕНЯ, ПОЛУЧЕННЫЕ НА ОСНОВЕ МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ *Hordeum vulgare* L. × *Hordeum bulbosum* L.

Пендинен Г. И.

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

\* ✉ [pendinen@mail.ru](mailto:pendinen@mail.ru)

**Актуальность.** Привлечение чужеродного генетического материала ячменя луковичного *Hordeum bulbosum* L. для расширения разнообразия ячменя культурного *Hordeum vulgare* L. является важной задачей, поскольку вид *H. bulbosum* характеризуется рядом ценных признаков. Одним из путей использования генетического потенциала ячменя луковичного служит межвидовая гибридизация и получение на основе гибридов фертильных интрогрессивных линий *H. vulgare*. Цель исследования – получение новых интрогрессивных форм ярового ячменя с использованием межвидовых триплоидного ( $H^vH^bH^b$ ) и тетраплоидного ( $H^bH^bH^vH^v$ ) гибридов культурного ячменя с ячменем луковичным для расширения коллекции интрогрессивных линий *H. vulgare*. **Материал и методы.** Для создания новых интрогрессивных форм, диплоидный ячмень культурный *H. vulgare* (2x) сорта ‘Roland’ опыляли пыльцой межвидовых гибридов: 1) триплоидного, полученного при скрещивании диплоидного ячменя сорта ‘Roland’ (2x,  $H^vH^v$ ) с тетраплоидным образцом ячменя луковичного *H. bulbosum* W851 (4x,  $H^bH^bH^bH^b$ ): *H. vulgare* ‘Roland’ (2x) × *H. bulbosum* W851 (4x) ( $H^vH^bH^b$ ); 2) тетраплоидного, полученного при использовании в скрещивании тетраплоидного образца *H. bulbosum* A17 (4x,  $H^bH^bH^bH^b$ ) в качестве материнской формы и тетраплоидного культурного ячменя сорта ‘Borwina’ (4x,  $H^vH^vH^vH^v$ ) в качестве опылителя: *H. bulbosum* A17 (4x) × *H. vulgare* ‘Borwina’ (4x) ( $H^bH^bH^vH^v$ ). В потомстве от этих скрещиваний отбирали формы культурного ячменя с интрогрессией генетического материала ячменя луковичного, далее отбор продолжали в двух поколениях от самоопыления растений первого поколения, полученных в результате возвратных скрещиваний, то есть растений BC1 с чужеродными интрогрессиями. Идентификацию и локализацию интрогрессий проводили с использованием метода флуоресцентной *in situ* гибридизации (GISH и FISH с хромосомоспецифичными маркерами). **Результаты.** При скрещивании культурного ячменя с триплоидными и тетраплоидными межвидовыми гибридами *H. vulgare* × *H. bulbosum* получены новые формы ячменя культурного с рекомбинантными хромосомами, среди которых выделено два растения с тремя терминальными интрогрессиями генетического материала ячменя луковичного. У первого растения, полученного на основе триплоидного гибрида, выявлены интрогрессии в хромосомах 5HL, 1HL, 3HS. При сочетании в кариотипе двух гомологов с интрогрессией 5HL исходного размера у растений в потомстве наблюдается гибель проростков. У второго растения, полученного на основе тетраплоидного гибрида, выявлены интрогрессии в хромосомах 5HL, 2HL, 7HS. В потомстве от самоопыления этой формы наличие интрогрессии 2HL исходного размера в обоих гомологах приводит к стерильности растений. Выявлены формы с изменением размеров интрогрессий в 5HL и 3HS в потомстве первого растения и с изменением размеров интрогрессии в 2HL в потомстве второго растения, что свидетельствует о рекомбинации в мейозе в этих участках хромосом у растений BC1. **Заключение.** При скрещивании культурного ячменя с триплоидным межвидовым гибридом *H. vulgare* × *H. bulbosum* в потомстве выявлено растение культурного ячменя с интрогрессиями в хромосомах 1HL, 5HL, 3HS. При скрещивании с тетраплоидным межвидовым гибридом выявлено растение культурного ячменя с интрогрессиями в хромосомах 2HL, 5HL, 7HS. На основе ярового сорта ячменя ‘Roland’ созданы две серии новых интрогрессивных форм *H. vulgare* с различным сочетанием рекомбинантных хромосом.

**Ключевые слова:** ячмень, *Hordeum vulgare*, *Hordeum bulbosum*, межвидовая гибридизация, *in situ* гибридизация, чужеродная интрогрессия

## Для цитирования:

Пендинен Г.И. Новые интрогрессивные формы культурного ячменя, полученные на основе межвидовых гибридов *Hordeum vulgare* L. × *Hordeum bulbosum* L. *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(4):25-39. DOI: 10.30901/2658-6266-2021-4-02

**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/10.30901/2658-6266-2021-4-02> **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 согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0662-2019-0006 «Поиск, поддержание жизнеспособности и раскрытие потенциала наследственной изменчивости мировой коллекции зерновых и крупяных культур ВИР для развития, оптимизированного генбанка и рационального использования в селекции и растениеводстве».

---

# NEW INTROGRESSIVE FORMS OF CULTIVATED BARLEY OBTAINED ON THE BASIS OF INTERSPECIFIC HYBRIDS

## *Hordeum vulgare* L. × *Hordeum bulbosum* L.

Pendinen G. I.

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

\* ✉ pendinen@mail.ru

**Background.** The use of alien genetic material of bulbous barley *Hordeum bulbosum* L. to increase the diversity of cultivated barley *Hordeum vulgare* L. is an important task, since *H. bulbosum* is characterized by a number of valuable traits. One of the ways to use the genetic potential of bulbous barley is the interspecific hybridization and obtaining fertile introgressive lines of *H. vulgare* based on interspecific hybrids. The aim of the study was to obtain new introgressive forms of spring barley using interspecific triploid (H<sup>a</sup>H<sup>b</sup>H<sup>b</sup>) and tetraploid (H<sup>b</sup>H<sup>b</sup>H<sup>a</sup>H<sup>a</sup>) hybrids of cultivated barley with bulbous barley to expand the collection of introgressive lines of *H. vulgare*. **Materials and methods.** To create new introgressive forms, diploid barley *H. vulgare* (2x) cv. ‘Roland’, was crossed with interspecific hybrids *H. vulgare* cv. ‘Roland’(2x) × *H. bulbosum* W851 (4x) (H<sup>a</sup>H<sup>b</sup>H<sup>b</sup>), and *H. bulbosum* A17 (4x) × *H. vulgare* ‘Borwina’ (4x) (H<sup>b</sup>H<sup>b</sup>H<sup>a</sup>H<sup>a</sup>). Cultivated barley forms with introgression of the bulbous barley genetic material were selected from the offspring from these crosses; then the selection was continued in two progenies from self-pollination of selected BCI plants with three alien introgressions. Identification and localization of introgressions was carried out using the method of fluorescent *in situ* hybridization (GISH and FISH with chromosome-specific markers) **Results.** The crossing of cultivated barley with triploid and tetraploid interspecific hybrids *H. vulgare* × *H. bulbosum* yielded new forms of cultivated barley with recombinant chromosomes, among which two plants with three terminal introgressions of the genetic material of bulbous barley were identified. The first plant, derived from a triploid hybrid, showed introgressions in chromosomes 5HL, 1HL and 3HS. When two homologues with the 5HL introgression of the initial size are combined in the karyotype, the lethality of seedlings is observed in the offspring plants. In the second plant obtained on the basis of a tetraploid hybrid introgression was revealed in chromosomes 5HL, 2HL, and 7HS. In the offspring from self-pollination of this form, the presence of the 2HL introgression of the original size in both homologues led to plant sterility. Forms with a change in size of the introgression in 5HL and 3HS in the offspring of the first plant and with a change in size of the introgression in 2HL in the offspring of the second plant were detected, which indicated that meiotic recombination had occurred in those chromosome regions in BCI plants. **Conclusions** A barley plant with the introgression of bulbous barley chromatin into chromosomes 1HL, 5HL, and 3HS of cultivated barley was identified in the offspring from a cross of cultivated barley with a triploid interspecific hybrid *H. vulgare* × *H. bulbosum*. In crosses with a tetraploid interspecific hybrid, a barley plant with the introgression into chromosomes 2HL, 5HL, and 7HS was found. On the basis of ‘Roland’ spring barley cultivar, two series of new introgressive forms of *H. vulgare* with various combinations of recombinant chromosomes have been created.

**Key words:** barley, *Hordeum vulgare*, *Hordeum bulbosum*, interspecific hybridization, *in situ* hybridization, alien introgression

### For citation:

Pendinen G.I. New introgressive forms of cultivated barley obtained on the basis of interspecific hybrids *Hordeum vulgare* L. × *Hordeum bulbosum* L. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(4):25-39. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-4-02

**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/10.30901/2658-6266-2021-4-02> **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:

Pendinen G.I. <https://orcid.org/0000-0003-2814-7074>

УДК 575.222.72

Поступила в редакцию: 20.12.2021

Принята к публикации: 28.12.2021

---

**Acknowledgments:** The research was performed within the framework of the State Assignment according to the Thematic Plan of VIR, Project No. 0662-2019-0006 “Search for, Viability Maintenance and Disclosure of the Potential of Hereditary Variation in the VIR Global Collection of Cereal and Groat Crops for the Development of an Optimized Genebank and its Sustainable Utilization in Plant Breeding and Crop Production”.

## Введение

Дикорастущие виды рода *Hordeum* L. могут служить одним из важных источников расширения генетического разнообразия ячменя культурного *Hordeum vulgare* L. В зависимости от возможности использования в селекции культурного ячменя, виды *Hordeum* относят к первичному, вторичному и третичному генным пулам (Bothmer et al., 1992). Ячмень луковичный *Hordeum bulbosum* L. относят к вторичному генетическому пулу. Среди образцов этого вида встречаются диплоидные и тетраплоидные формы (Bothmer et al., 1991). Ячмень луковичный – единственный дикорастущий вид рода *Hordeum*, генофонд которого успешно используется в интрогрессивной гибридизации с культурным ячменем *H. vulgare*. Для геномов этих двух видов характерна значительная степень сходства, обеспечивающая гомеологичную рекомбинацию в мейозе (Bothmer et al., 1991), а также высокая степень коллинеарности всех групп сцепления (Wendler et al., 2017). Образцы ячменя луковичного характеризуются рядом ценных признаков, которые могут быть перенесены в геном культурного ячменя при межвидовой гибридизации (Jones, Pickering, 1978; Michel, 1996; Szigat, Szigat, 1991; Ruge et al, 2003; Ruge-Wehling et al., 2006; Scholz et al., 2009; Pidon et al., 2021). Особенно важное значение имеют такие признаки *H. bulbosum*, как устойчивость к мучнистой росе, стеблевой и листовой ржавчине, вирусам BaMMV, BaYMV, BYDV. Поэтому, несмотря на то, что традиционно особенности взаимодействия геномов *H. bulbosum* и *H. vulgare* используют для получения гаплоидов культурного ячменя (Ho, Kasha, 1975; Fukuyama, Hosoya, 1983; Devaux, 2003), необходимо использовать генофонд этого дикорастущего вида как источник для расширения генетического разнообразия ячменя культурного при межвидовой гибридизации. На основе межвидовых гибридов *H. vulgare* × *H. bulbosum* получены интрогрессивные линии (Pickering, 1988; Pickering, 1992; Pickering et al. 1994; Pickering et al., 2000; Johnston, Pickering, 2002; Scholz et al., 2009; Pendinen, Scholz, 2018). Среди них выявлены формы, характеризующиеся устойчивостью к болезням, переданной от ячменя луковичного: к листовой ржавчине (интрогрессия в хромосому 2HL или 4HL), к стеблевой ржавчине (интрогрессия в 6HS), к ринхоспориозу (интрогрессия в 4HS); к мучнистой росе (интрогрессия в короткое плечо хромосомы 2HS) (Pickering et al., 2000; Pickering et al., 2006; Shtaya et al., 2007; Ruge et al, 2020). Отобраны интрогрессивные линии, устойчивые к вирусам и идентифицированы новые гены устойчивости к BaMMV (ген *Rym14Hb* – интрогрессия в 6HS; ген *Rym16Hb* – интрогрессия генетического материала *H. bulbosum* в хромосому 2HL), к BaYMV (*Rym16Hb* – интрогрессия в 2HL), к BYDV (ген *Ryd4Hb* – интрогрессия в 3HL) (Ruge, et al, 2003; Ruge-Wehling et al., 2006; Scholz et al., 2009; Pidon et al., 2021).

Гомеологичная рекомбинация в мейозе гибридов лежит в основе интрогрессии генетического материала *H. bulbosum* в геном ячменя культурного (Zhang et al., 1999; Pickering et al., 2004; Pickering et al., 2006; Scholz, Pendinen, 2017, Pendinen, Scholz, 2020). Разные хромосомы и их плечи с разной частотой участвуют в образовании межгеномных ассоциаций хромосом в мейозе (Pickering et al., 2004; Pickering et al., 2006; Scholz, Pendinen, 2017, Pendinen, Scholz, 2020). Показано, что рекомбинация между хромосомами геномов этих видов происходит в терминальных участках хромосом. В связи с этим, необходимо привлечение наибольшего разнообразия генотипов ячменя луковичного и *H. vulgare* в скрещиваниях для создания разнообразия интрогрессивных линий культурного ячменя.

В скрещиваниях *H. vulgare* (2x) × *H. bulbosum* (2x) и *H. vulgare* (4x) × *H. bulbosum* (4x) при соотношении геномов  $1H^v : 1H^b$ , в гибридном зародыше во многих комбинациях наблюдается элиминация хромосом ячменя луковичного, и результат скрещивания в значительной степени зависит от генотипов используемых родительских форм (Ho, Kasha, 1975; Fukuyama, Hosoya, 1983; Devaux, 2003). Чаще всего в таких вариантах скрещиваний результатом являются гаплоиды *H. vulgare*, или гибридные формы с нестабильным числом хромосом (Lange, 1971a,b). Эта особенность в значительной степени ограничивает привлечение разнообразия сортов культурного ячменя в интрогрессивную гибридизацию с ячменем луковичным. При скрещивании диплоидных форм *H. vulgare* с тетраплоидными образцами *H. bulbosum* (4x) результатом являются стабильные по хромосомному составу триплоидные гибриды ( $H^vH^bH^b$ ) (Lange, 1971a). На их основе могут быть получены серии интрогрессивных линий культурного ячменя. С использованием триплоидного гибрида *H. vulgare* ‘Igr1’ (2x) × *H. bulbosum* (4x), уже создана серия озимых линий, имеющих фенотип культурного ячменя и характеризующихся высокой фертильностью (Scholz et al., 2009; Pendinen et al, 2018). Одним из путей расширения разнообразия сортов культурного ячменя, привлекаемых для создания интрогрессивных линий, может быть их скрещивание с многолетними стабильными триплоидными ( $H^vH^bH^b$ ) и тетраплоидными ( $H^vH^bH^b$ ) формами.

Целью нашего исследования было создание новых форм культурного ячменя, несущих генетический материал ячменя луковичного, на основе триплоидного и тетраплоидного межвидовых гибридов *H. vulgare* × *H. bulbosum*.

## Материал

Для получения новых интрогрессивных форм, ячмень *H. vulgare* (2x) сорта ‘Roland’ (к-26897) скрещивали с триплоидным межвидовым гибридом *H. vulgare* ‘Roland’(2x) × *H. bulbosum* W851 кл1 (4x) ( $H^vH^bH^b$ ), характеризующимся частичной фер-

тильностью пыльцы. Кроме того, в скрещиваниях в качестве опылителя использовали частично фертильный многолетний гибрид *H. bulbosum* A17 (4x) × *H. vulgare* 'Borwina' (4x) (H<sup>b</sup>H<sup>b</sup>H<sup>v</sup>H<sup>v</sup>) (Scholz et al., 2017). Отбор новых интрогрессивных форм проводили среди растений BC1, полученных в следующих комбинациях скрещиваний: *H. vulgare* 'Roland' ×

(*H. bulbosum* A17 (4x) × *H. vulgare* 'Borwina' (4x)) (9 растений); *H. vulgare* 'Roland' × (*H. vulgare* 'Roland' (2x) × *H. bulbosum* W851 кл1 (4x)) (47 растений). Далее, в потомстве от самоопыления растений BC1 с тремя интрогрессиями (табл. 1) проводили отбор форм с различным сочетанием рекомбинантных хромосом.

**Таблица 1. Растения *Hordeum vulgare* L. с интрогрессиями генетического материала ячменя луковичного, используемые для дальнейшего отбора.**

**Table 1. *Hordeum vulgare* L. plants with the introgression of the genetic material of bulbous barley, used for further selection.**

№/ No.	BC1	Геномный состав / число и локализация интрогрессий в хромосомы растений BC1 Genomic composition / number and localization of introgressions into chromosomes of BC1 plants	Исучено растений в потомстве от самоопыления BC1/ Number of plants studied in the progeny from self-pollination of BC1
1	<i>H. vulgare</i> 'Roland' × ( <i>H. vulgare</i> 'Roland' (2x) × <i>H. bulbosum</i> W851 (4x))	H <sup>v</sup> H <sup>v</sup> / 3 – 5HL; 1HL; 3HS терминальные различных размеров	52
2	<i>H. vulgare</i> 'Roland' × ( <i>H. bulbosum</i> A17 (4x) × <i>H. vulgare</i> 'Borwina' (4x))	H <sup>v</sup> H <sup>v</sup> / 3 – 5HL, 2HL, 7HS терминальные различных размеров	7

В восьми семьях F2, полученных на основе растения *H. vulgare* 'Roland' × (*H. vulgare* 'Roland' (2x) × *H. bulbosum* W851 (4x)) и в пяти семьях F2, полу-

ченных на основе растения *H. vulgare* 'Roland' × (*H. bulbosum* (4x) × *H. vulgare* 'Borwina' (4x)), проводили следующий цикл отбора интрогрессивных форм (табл. 2).

**Таблица 2. Семьи *Hordeum vulgare* L., полученные на основе самопыления растений BC1 и использованные в GISH-анализе**

**Table 2. Families of *Hordeum vulgare*, obtained from self-pollination of BC1 plants and used in GISH analysis**

№/ No.	№ семьи / Family No.	Геномный состав / число и локализация интрогрессий у растений F <sub>1</sub> Genomic composition / number and localization of introgression in F <sub>1</sub> plants	Число изученных растений в F <sub>2</sub> / Number of studied F <sub>2</sub> plants
<i>H. vulgare</i> 'Roland' × ( <i>H. vulgare</i> 'Roland' (2x) × <i>H. bulbosum</i> W851 (4x)),			
1	41/7	H <sup>v</sup> H <sup>v</sup> / 3 : 2-1HL терм; 1- 5HL крупная терм.	12
2	41/12	H <sup>v</sup> H <sup>v</sup> / 5: 2-1HL терм; 1- 5HL крупная терм.; 2-3HS терм очень мал	12
3	42/17	H <sup>v</sup> H <sup>v</sup> / 3: 1-1HL терм; 2- 3HS терм. разл.размера	6
4	43/19	H <sup>v</sup> H <sup>v</sup> / 5: 2-1HL терм; 2- 5HL разл разм. терм.; 1- 3HS очень мал. терм	8
5	44/27	H <sup>v</sup> H <sup>v</sup> / 4: 1-1HL терм; 2- 5HL разл разм. терм.; 1- 3HS терм	14
6	45/31	H <sup>v</sup> H <sup>v</sup> / 1: 5HL, крупная терминальная	11
7	46/37	H <sup>v</sup> H <sup>v</sup> / 4: 2-1HL терм; 1- 5HL; 1- 3HS терм	6
8	46/38	H <sup>v</sup> H <sup>v</sup> / 1: 5HL, крупная терминальная	6
<i>H. vulgare</i> 'Roland' × ( <i>H. bulbosum</i> A17(4x) и-632321* × <i>H. vulgare</i> 'Borwina' (4x))			
1	73/11	H <sup>v</sup> H <sup>v</sup> / 4: 2- 2HL крупная терм., 1-5HL мал.терм, 1-7HS крупная терм	1
2	73/5	H <sup>v</sup> H <sup>v</sup> / 2: 1-2HL крупная терм.	6
3	74/12	H <sup>v</sup> H <sup>v</sup> / 3: 2 -2HL крупная терм., 1-5HL мал.терм	8
4	74/7	H <sup>v</sup> H <sup>v</sup> / 2: 1 -2HL крупная терм., 1-5HL мал.терм	6
5	74/8	H <sup>v</sup> H <sup>v</sup> / 3: 1- 2HL крупная терм., 1-5HL мал.терм, 1-7HS больш.терм	6

Примечание:

\* - образец тетраплоидного ячменя луковичного *H. bulbosum* (4x) с номером интродукции из коллекции ВИР

## Материал и методы

**Культивирование растений.** Растения ячменя, использованные в скрещиваниях в качестве материнской формы, выращивали в условиях опытного поля. Многолетние гибридные растения *H. vulgare* 'Roland' (2x) × *H. bulbosum* W851 (4x) и *H. bulbosum* A17 (4x) × *H. vulgare* 'Borwina' (4x), используемые в качестве опылителей, культивировали в сосудах с почвой: с октября по май – в теплице с неконтролируемой температурой и освещенностью, с мая по октябрь – на открытой вегетационной площадке. Зерна, полученные в результате опыления цветков материнских растений пылью гибридов, проращивали в чашках Петри. Перед посадкой в почву 1-2 корня каждого проростка отбирали для цитогенетического анализа. Проростки высаживали в сосуды с почвой объемом 1 литр и культивировали в теплице. Используя GISH-анализ, отбирали растения с интрогрессиями генетического материала ячменя луковичного. У растений собирали зерна от самоопыления. Часть зерновок высаживали для дальнейшего отбора. Растения F<sub>1</sub> и F<sub>2</sub> также выращивали в индивидуальных сосудах с почвой с предварительной фиксацией корешков проростков для проведения *in situ* гибридизации.

**Фиксация материала и подготовка препаратов.** Отобранные для цитогенетического анализа корешки помещали на сутки в воду со льдом, затем фиксировали в смеси 96% этиловый спирт : ледяная уксусная кислота в соотношении 3:1. Фиксатор через сутки меняли на свежий. Фиксации хранили в морозильной камере (-20°C) до их использования. Перед подготовкой препаратов корневые меристемы инкубировали в течение 70 минут в растворе мацерирующих ферментов, содержащих целулазу R10 (1,14 ед/мг) в концентрации 40 мг/мл, и пектолиазу (0,94 ед/мг) в концентрации 10 мг/мл. Затем готовили давленные препараты.

**Флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH, GISH).** Для идентификации генетического материала *H. bulbosum* в хромосомах *H. vulgare* использовали *in situ* гибридизацию.

Подготовку митотических препаратов и *in situ* гибридизации (GISH, FISH) проводили по адаптированной к изучению межвидовых гибридов ячменя культурного с ячменем луковичным методике, обеспечивающей надежную идентификацию генетического материала *H. bulbosum* в хромосомах *H. vulgare* (Scholz et al, 2009; Scholz et al. 2017).

Для идентификации хромосом использовали два маркера: 5S рДНК и 18/25S рДНК (Brown et al, 1999, Pickering et al, 2004, Scholz, Pendinen, 2017).

Для идентификации хромосом *H. vulgare* использовали меченые 1) 5S рДНК, позволяющую идентифицировать хромосомы 2Н, 3Н, 7Н, 4Н; 2) 18/25S рДНК – для идентификации хромосом 1Н, 5Н, 6Н.

Для GISH общую ДНК *H. bulbosum* метили методом Nick-трансляции с использованием DIG-Nick Translation

Mix (Roche, Diagnostics GmbH, Germany). Нуклеотидную последовательность 18/25S рДНК в плазмиде VER17 (Yakura, Tanifuji, 1983) метили методом Nick-трансляции с использованием BIO- или DIG-Nick Translation Mix (Roche Diagnostics GmbH, Germany). Меченую 5S рДНК получали методом ПЦР с использованием праймеров согласно ранее опубликованному протоколу (Gottlob-McHugh et al., 1990), в смесь для реакции включали биотин-16-dUTP (Roche Diagnostics GmbH, Germany). В пробе для гибридизации использовали дифференциально меченые геномную ДНК *H. bulbosum* для GISH и хромосомспецифичный маркер ДНК для FISH (5S рДНК или 18/25S рДНК), а также в качестве блоклирующей – общую ДНК *H. vulgare*, разрушенную кипячением до длины фрагментов 100-200 пн. В двухцветной GISH-FISH для детекции биотиновой пробы использовали streptavidin-Cy3 (Dianova GmbH, Germany), для детекции дигоксигениновой метки – anti-digoxigenin-FITC (Roche Diagnostics GmbH, Germany). Хромосомы контрастировали DAPI (4', 6-диамидино-2-фенилиндол, дигидрохлорид), используя раствор в концентрации 1,0 мкг/мкл.

**Анализ препаратов.** Для анализа препаратов, создания изображений и оптимизации их качества использовали эпифлуоресцентный микроскоп AxioImager M2 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия) с камерой AxioCamMRm и программным обеспечением AxioVision Rel 4.8. Для оптимизации яркости и контраста компьютерных изображений использовали программу Adobe Photoshop 6.0.

## Результаты

Одной из задач работы по увеличению коллекции интрогрессивных линий ячменя является расширение разнообразия привлекаемых в скрещивания образцов родительских видов *H. vulgare* и *H. bulbosum*. Скрещивание сортов ячменя с межвидовыми гибридами – один из быстрых путей для отбора интрогрессивных форм культурного ячменя, поскольку хромосомы *H. bulbosum* в этом случае элиминируются в эмбриогенезе из-за возрастания дозы генома культурного ячменя. Среди полученных растений отбирают формы с рекомбинантными хромосомами Н<sup>vb</sup>, несущими фрагменты генетического материала *H. bulbosum*.

Для использования в скрещиваниях были выбраны два гибрида, образующие хорошо сформированную пыльцу (Приложение / Supplement<sup>1</sup>). Пыльники тетраплоидного гибрида *H. bulbosum* A17 (4x) × *H. vulgare* 'Borwina' (4x) хорошо растрескиваются, гибрид характеризуется частичной фертильностью при самоопылении. У триплоидного гибрида *H. vulgare* 'Roland' (2x) × *H. bulbosum* W851 (4x) большинство колосьев имели нерастрескивающиеся пыльники со стерильной пылью. Однако в отдельных колосьях этого растения наблюдали растрескивание пыльников

и высыпание из них пыльцевых зерен. Такую пыльцу собирали и использовали в скрещиваниях.

При опылении культурного ячменя пыльцой тетраплоидного гибрида *H. bulbosum* A17 (4x) × *H. vulgare* 'Borwina' (4x) наблюдали высокую завязываемость (76,2%) и формирование выполненных зерновок, из которых проросли лишь 9 (56,25 % от общего числа) (табл. 3). В реципрокном скрещивании завязываемость была ниже (15,38%), формировались щуплые зерновки со слаборазвитым эндоспермом, из шести зерновок

проросли три (50% от общего числа зерновок). Зерновки, полученные при опылении культурного ячменя пыльцой триплоидного гибрида *H. vulgare* 'Roland' (2x) × *H. bulbosum* W851 (4x), имели хорошо развитые зародыш и эндосперм. Большая часть из них (75,86 %) проросли. Все полученные растения имели фенотип культурного ячменя. При анализе хромосомного состава проростков методом GISH было показано, что все они представляют только 14-хромосомные формы *H. vulgare*.

**Таблица 3. Завязываемость, прорастание зерновок и частота интрогрессивных форм в потомстве BC1 при скрещиваниях культурного ячменя с межвидовыми гибридами *H. vulgare* × *H. bulbosum***

**Table 3. Seed setting, germination of caryopses and the frequency of introgressive forms in the progeny of BC1 in crosses of cultivated barley with interspecific hybrids *H. vulgare* × *H. bulbosum***

№/ No.	Комбинация скрещивания / Cross combination	Опылено цветков / Number of pollinated flowers	Завязалось зерновок / Seed setting		Проросло зерновок / Number of sprouted kernels		Проростков с H <sup>vb</sup> * хромосомами / Seedlings with H <sup>vb</sup> chromosomes	
			число	%	число	%	число	%
1	<i>H. vulgare</i> 'Roland' × ( <i>H. vulgare</i> 'Roland' (2x) × <i>H. bulbosum</i> W851 (4x))	299	58	19,39	44	75,86	1	2,27
2	<i>H. vulgare</i> 'Roland' × ( <i>H. bulbosum</i> A17 (4x) × <i>H. vulgare</i> 'Borwina' (4x))	21	16	76,19	9	56,25	3	33,33
3	( <i>H. bulbosum</i> A17 (4x) × <i>H. vulgare</i> 'Borwina' (4x)) × <i>H. vulgare</i> 'Roland'	39	6	15,38	3	50,00	2	66,67

\* H<sup>vb</sup> – хромосома *H. vulgare* с интрогрессией генетического материала *H. bulbosum*

H<sup>vb</sup> – chromosome of *H. vulgare* with the introgression of *H. bulbosum* genetic material

Среди растений, полученных в комбинации *H. vulgare* 'Roland' × (*H. vulgare* 'Roland' (2x) × *H. bulbosum* W851 (4x)), выявлено только одно с терминальными интрогрессиями генетического материала ячменя луковичного в хромосомах 5HL, 1HL, 3HS (табл. 4, рис. 1б), терминальная интрогрессия в хромосоме 5HL этого растения была длиннее других. Эта интрогрессивная форма представляет наибольший интерес, поскольку в ее создании использованы новые, ранее не использованные образцы: яровой сорт культурного ячменя 'Roland' и клон *H. bulbosum* W851. Для этого клона характерен короткий период яровизации и высокая зимостойкость в условиях опытного поля НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» (г. Пушкин, Санкт-Петербург).

У двух растений, полученных в комбинации *H. vulgare* 'Roland' × (*H. bulbosum* A17 (4x) × *H. vulgare* 'Borwina' (4x)) выявлено по одной хромосоме с небольшой, едва различимой на цитологических препаратах после GISH, терминальной интрогрессией генетического материала *H. bulbosum* в 1HL у одного и в 6HS – у другого растения. У одного растения этой комбинации выявлено три рекомбинантные хромосомы с терминальными интрогрессиями в 2HL, 5HL (небольшая), 7HS (см. табл. 4, рис. 2а). У двух растений, полученных в реципрокной комбинации, выявлены маленькие терминальные интрогрессии в хромосоме 3HL.

<sup>1</sup> Приложение доступно в онлайн версии статьи / Supplement is available in the online version of the paper: <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-4-o2>

Таблица 4. Интрогрессивные формы *H. vulgare*, выявленные в потомстве от скрещивания культурного ячменя с межвидовыми гибридами

Table 4. Introgressive forms of *H. vulgare* identified in the offspring from crosses of cultivated barley with interspecific hybrids

№/ No.	Комбинация скрещиваний / Cross combination	№ растения / Plant No.	Число – локализация интрогрессий / Number – introgression site
1	<i>H. vulgare</i> 'Roland' × ( <i>H. bulbosum</i> A17 (4x) × <i>H. vulgare</i> 'Borwina' (4x))	1	1 – 1HL – терминальная
		2	1 – 6HS – терминальная
		3	3 – 5HL, 2HL, 7HS – терминальные
2	( <i>H. bulbosum</i> A17 (4x) × <i>H. vulgare</i> 'Borwina' (4x)) × <i>H. vulgare</i> 'Roland'	1	1 – 3HL – терминальная
		2	1 – 3HL – терминальная
3	<i>H. vulgare</i> 'Roland' × ( <i>H. vulgare</i> 'Roland' (2x) × <i>H. bulbosum</i> W851 (4x))	1	3 – 5HL; 1HL; 3HS – терминальные

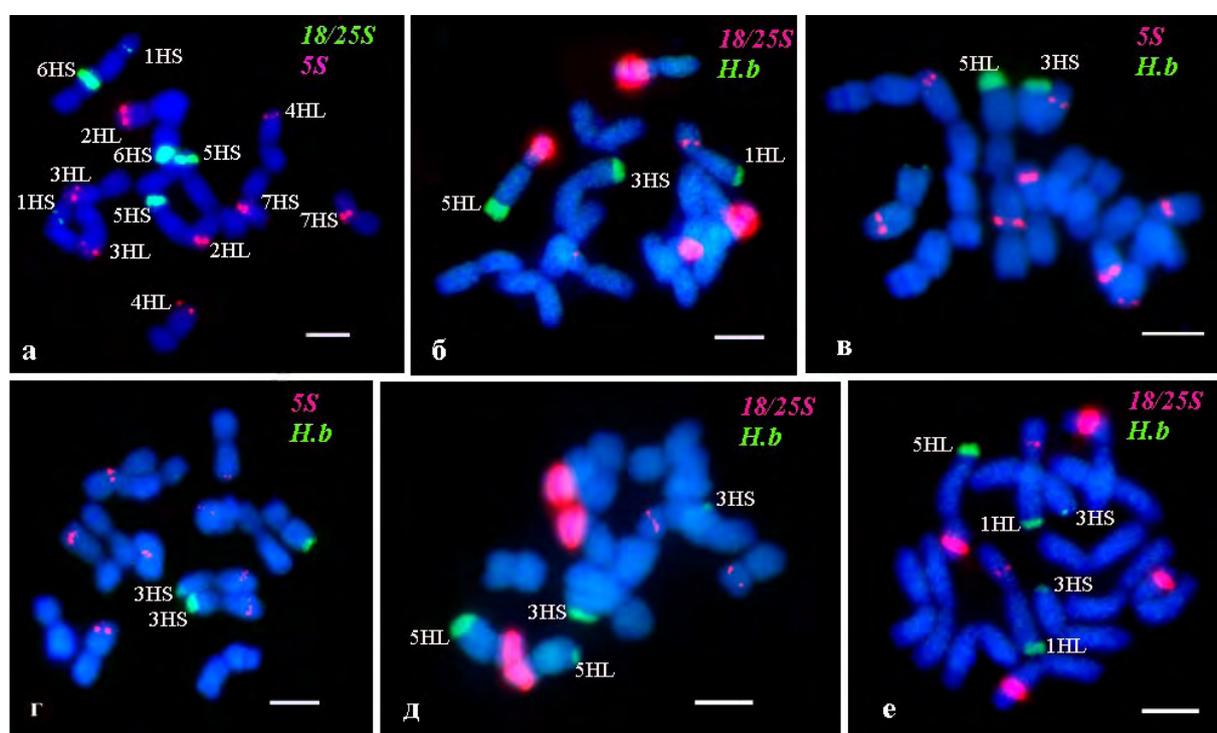


Рис 1. Локализация генетического материала *H. bulbosum* в хромосомах интрогрессивных форм *H. vulgare* у растений в потомстве от скрещивания *H. vulgare* 'Roland' (2x) × (*H. vulgare* 'Roland' × *H. bulbosum* W851 (4x))

а – локализация маркеров 5S и 18S/25S на хромосомах ячменя сорта 'Roland'; б-е – кариотипы форм с интрогрессиями генетического материала *H. bulbosum*: б – растения BC1 с интрогрессиями в хромосомах 1HL, 5HL, 3HS; в-е в растениях от самоопыления BC1 с двумя интрогрессиями в хромосомах 5HL и 3HL (в); с тремя интрогрессиями, две из них – различных размеров – в двух гомологах хромосомы 3HS (г); с четырьмя интрогрессиями – две из них различных размеров – в двух гомологах хромосомы 5HL, две – в двух гомологах 3HS (д); с пятью интрогрессиями: двумя – в хромосоме 1HL, двумя – в хромосоме 3HS, одной – в 5HL(е).

Fig. 1. Localization of *H. bulbosum* genetic material in the chromosomes of introgressive forms of *H. vulgare* in the offspring plants from crossing *H. vulgare* 'Roland' (2x) × (*H. vulgare* 'Roland' × *H. bulbosum* W851 (4x))

а – localization of markers 5S and 18S/25S on the chromosomes of 'Roland' barley; б-е – karyotypes of forms with the introgression of the genetic material of *H. bulbosum*: б – BC1 plants with introgression in chromosomes 1HL, 5HL, 3HS; в-е – plants from BC1 self-pollination with two introgressions in chromosomes 5HL and 3HL (в); with three introgressions, two of them – of different size – in two homologues of chromosome 3HS (г); with four introgressions – two of them of different size – in two homologues of chromosome 5HL, two – in two homologues of 3HS (д); with five introgressions: two – in 1HL, two – in 3HS, one – in 5HL chromosome (е).

Для дальнейшего отбора интрогрессивных форм использовали семена от самоопыления двух растений с тремя интрогрессиями: *H. vulgare* 'Roland' × (*H. vulgare* 'Roland' (2x) × *H. bulbosum* W851 (4x)) и *H. vulgare* 'Roland' × (*H. bulbosum* (4x) × *H. vulgare* 'Borwina' (4x)).

В потомстве растения BC1 *H. vulgare* 'Roland' × (*H. vulgare* 'Roland' (2x) × *H. bulbosum* W851 (4x)) с тремя интрогрессиями было выявлено 17 групп растений с различным сочетанием хромосом, несущих интрогрессии генетического материала ячменя луковичного, от 1-ой до 5-ти на растение (табл. 5, рис. 1в – е).

В случае сочетания в кариотипе растения обоих гомологов с интрогрессией 5HL исходного размера (рис. 2а,б), наблюдали летальность на стадии развития первого листа (см. табл. 5). Зерновки у таких растений прорастали нормально, начинал развиваться зеленый первый лист, затем лист начинал терять зеленую окраску, растения погибали на стадии первого – начала развития второго листа. Летальность наблюдалась у всех растений с парой таких

рекомбинантных хромосом, независимо от наличия или отсутствия других интрогрессий.

Следует отметить, что у ряда растений размер интрогрессии 5HL отличался от исходного растения, что свидетельствует о гомеологичной мейотической рекомбинации в этом участке хромосомы. Выявлены жизнеспособные формы с двумя интрогрессиями 5HL различных размеров (см. рис. 1д), поэтому существует возможность отбора жизнеспособных стабильных форм, несущих чужеродный генетический материал в обоих гомологах этого плеча хромосомы. Растения с другим составом интрогрессий имели нормальную жизнеспособность, по фенотипу были близки к родительскому сорту ячменя. Среди них выявлены формы с интрогрессией в обоих гомологах хромосом 1HL и 3HS. У растений с двумя интрогрессиями 3HS отмечено различие размеров фрагментов генетического материала ячменя луковичного в гомологичных хромосомах. Изменение размеров интрогрессий в 5HL и 3HS свидетельствует о рекомбинации в мейозе в этих участках хромосом у растения BC1.

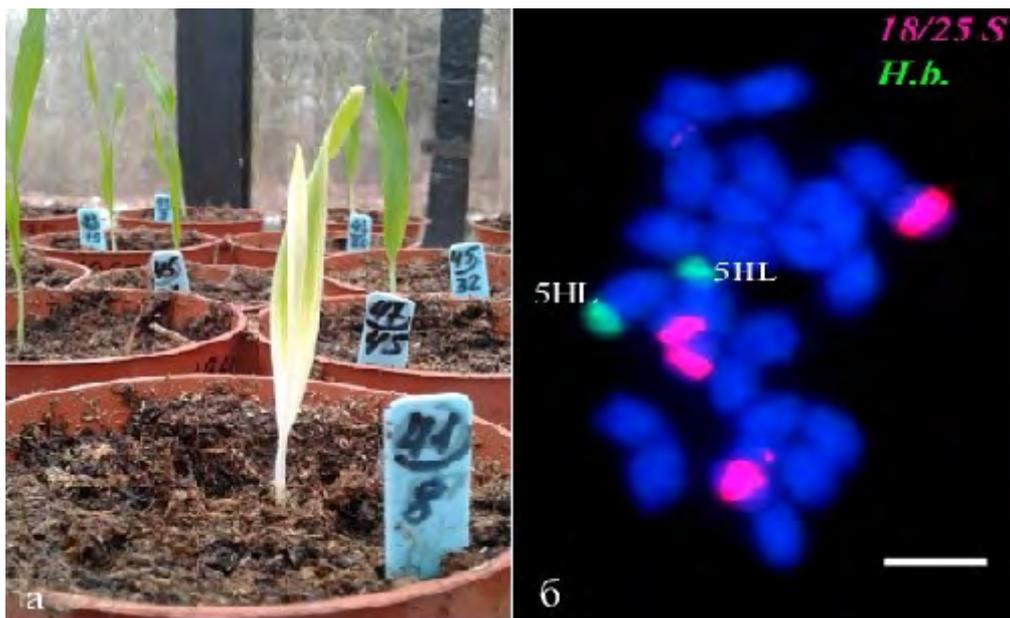
**Таблица 5. Идентифицированные интрогрессии генетического материала ячменя луковичного у растений в поколении от самоопыления BC1 (*H. vulgare* 'Roland' (2x) × (*H. vulgare* 'Roland' × *H. bulbosum* W851 (4x)))**

**Table 5. Identified introgressions of the genetic material of bulbous barley in the offspring plants from BC1 self-pollination (*H. vulgare* 'Roland' (2x) × (*H. vulgare* 'Roland' × *H. bulbosum* W851 (4x)))**

№/No.	Число растений/ Number of plants	С интрогрессиями / With introgressions				Примечание/ Comment
		число */ Number	1HL	5HL	3HS	
1	6	1	0	1 крупная	0	-
2	2	1	0	0	1	-
3	4	2	1	1 крупная	0	-
4	6	2	1	0	1	-
5	5	2	0	1-крупная	1	-
<b>6</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>2</b> крупная	<b>0</b>	<b>Летальность*</b>
7	1	3	1	2 разл разм	0	-
8	2	3	0	2 разл разм	1	-
<b>9</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>2</b> крупная	<b>1</b>	<b>Летальность*</b>
10	4	3	1	1 менее исх	1	-
11	2	3	1	1 крупная	1	-
12	1	3	1	0	2 разл	-
13	1	3	0	1 крупная	2 разл разм	-
<b>14</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>2</b> крупная	<b>1</b>	<b>Летальность*</b>
15	4	4	2	1 крупная	1	-
16	2	4	2	1 менее исх	1	-
17	1	4	1	2 разл разм	1	-
18	1	5	2	2 разл разм	1	-

\* – нежизнеспособные растения с первым зеленым листом, постепенной потерей хлорофилла и гибелью на стадии развития первого листа.

\* – nonviable plants with the first green leaf, gradual loss of chlorophyll and death at the first leaf stage.



**Рис. 2. Летальность на стадии второго листа у растения в потомстве от самоопыления BC1 (*H. vulgare* 'Roland' (2x) × (*H. vulgare* 'Roland' × *H. bulbosum* W851(4x)).**

**а** – нежизнеспособное растение, **б** – кариотип этого растения с интрогрессиями генетического материала *H. bulbosum* исходного размера в обоих гомологах 5HL

**Fig. 2. Mortality at the second leaf stage in the offspring plant from BC1 self-pollination (*H. vulgare* 'Roland' (2x) × (*H. vulgare* 'Roland' × *H. bulbosum* W851 (4x)).**

**a** – nonviable plant, **b** – karyotype of this plant with the introgression of *H. bulbosum* genetic material of the initial size in both 5HL homologues

Растения с различным числом и сочетанием интрогрессий были использованы для дальнейшего отбора рекомбинантных форм. Во втором поколении от самоопыления изучали потомство восьми семей с различной комбинацией рекомбинантных хромосом. Как и в предыдущем поколении, в случае сочетания в кариотипе обоих гомологов с интрогрессией 5HL исходного размера наблюдали летальность на стадии развития второго листа. Но, наряду с летальными растениями с интрогрессией исходного размера в 5HL, были выявлены растения также несущие генетический материал *H. bulbosum* в обоих гомологах 5HL, но интрогрессии в этих случаях либо различались по размеру, либо были примерно равного размера, но меньше исходной интрогрессии. Среди растений второго поколения от самоопыления исходного растения с интрогрессиями отобраны линии с различным сочетанием рекомбинантных хромосом (табл. 6). Выявлены формы с интрогрессией генетического материала в обоих гомологах хромосом 1HL и 3HS.

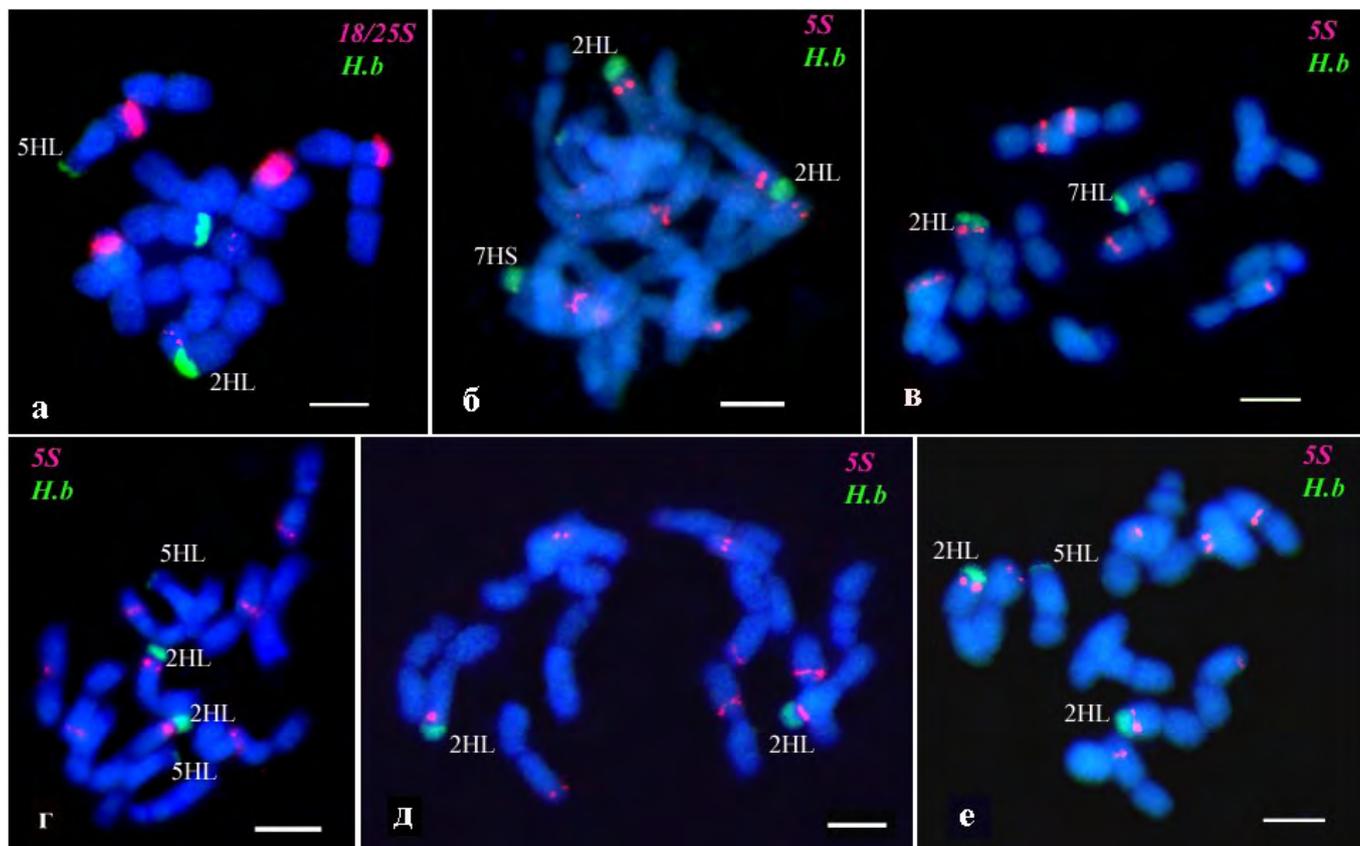
В потомстве от самоопыления второго растения BC1 от скрещивания (*H. vulgare* 'Roland' × (*H. bulbosum* A17 (4x) × *H. vulgare* 'Borwina' (4x)), имевшего три интрогрессии в хромосомах 5HL, 2HL, 7HS,

было охарактеризовано семь растений по количеству рекомбинантных хромосом с локализованным в них генетическим материалом ячменя луковичного. Выявлены различные варианты сочетания интрогрессий чужеродных хромосом в кариотипах изучаемых растений (табл. 7, рис. 3б-е). Наибольший интерес для дальнейшего отбора линий представляют растения с рекомбинантными хромосомами 2HL и/или 7HS в одном из гомологов, поскольку интрогрессии генетического материала ячменя луковичного в этих хромосомах имеют значительные размеры. Это дает возможность предполагать гомеологичную мейотическую рекомбинацию в соответствующем участке и проводить дальнейший отбор в последующих поколениях линий с интрогрессиями различного размера и локализации на хромосоме. Для растения №74/11 с интрогрессиями в обоих гомологах хромосомы 2HL характерна практически полная стерильность – завязалась одна зерновка (см. рис. 3б). Пыльники этого растения не растрескивались (см. Приложение / Supplement<sup>1</sup>). У другого растения с интрогрессией в хромосоме 2HL фрагменты генетического материала *H. bulbosum* в двух гомологах различались по размерам, что свидетельствует о рекомбинации в этом участке хромосомы (см. рис. 3г).

**Таблица 6. Идентифицированные интрогрессии генетического материала ячменя луковичного у растений во втором поколении от самоопыления растения BC1 (*H. vulgare* 'Roland' (2x) × (*H. vulgare* 'Roland' × *H. bulbosum* W851 (4x))**

**Table 6. Identified introgressions of the genetic material of bulbous barley in plants in the second generation from self-pollination of BC1 plants (*H. vulgare* 'Roland' (2x) × (*H. vulgare* 'Roland' × *H. bulbosum* W851 (4x))**

№ растения F <sub>1</sub> (число и локализация интрогрессий) / F <sub>1</sub> plant number (number and introgression site)	Число растений / Number of F <sub>2</sub> plants	С интрогрессиями в хромосомах / With introgressions in chromosomes			
		Всего / Total	1HL	5HL	3HS
41/7 (2-1HL терм; 1- 5HL крупная терм.)	5	2	2	0	0
	5	3	2	1 терм. крупная	
	2*	4	2	2 терм. крупные	0
41/12 (2-1HL терм; 1- 5HL крупная терм.; 2-3HS терм очень мал)	2	2	2 терм равн	0	
	2	2	2 терм разл разм	0	0
	2	3	2 терм равн	1 крупная	0
	5	3	2 терм разл разм	1 крупная	
	1	3	2 терм	1 средн терм	0
42/17 (1-1HL терм; 2- 3HS терм. разл.размера)	1	2	0	0	2
	2	3	1	0	2
	1	3	1 мал	0	2
	1	4	2 разл разм	0	2
43/19 (2-1HL терм; 2- 5HL разл разм. терм.; 1- 3HS очень мал. Терм)	1	3	2	1	0
	1	4	1	1	2 оч мал
	1	4	2	2 разл разм	0
	2	5	2	1 крупная	2 оч мал
	1	5	2	2 разл разм	1 оч мал
	2	6	2	2 мал	2 оч мал
44/27 (1-1HL терм; 2- 5HL разл разм. терм.; 1- 3HS терм)	2	2	2	0	
	2	3	2	0	1
	4	3	2	1	0
	1	3	1	0	2
	1	4	2	1 мал субтерм	1
	1	4	2	1	1 мал
	1	4	2	0	2
	1	5	2	1 средн	2
	1	6	2	2 средн разм	2
45/31 (5HL крупная терминальная)	1	1	0	1 мал	0
	1	1	0	1 средн	0
	7	1	0	1 терм крупная	0
	2	0	0	0	0
46/37 (2-1HL терм; 1-5HL; 1-3HS терм)	2	2	2	0	0
	1	3	2	0	1
	1	3	2	1 крупная	0
	2	4	2	1 крупная	1
46/38 (1-5HL , крупная терминальная)	3	0	0	0	0
	2	1	0	1 крупная	0
	1*	2	0	2 крупная	0



**Рис. 3. Локализация генетического материала *H. bulbosum* в хромосомах интрог्रेसивных форм *Hordeum vulgare* L. у растений в потомстве от скрещивания (*H. vulgare* ‘Roland’ × (*H. bulbosum* A17 (4x) × *H. vulgare* ‘Borwina’ (4x))**

**а** - у исходного растения *H. vulgare* (BC1) с тремя интрогрессиями, локализованными в хромосомах 2HL, 5HL, 7HS; **б-е** - у растений от самоопыления BC1 с интрогрессиями в обоих гомологах 2HL и в одной из гомологов 7HS - стерильное растение (**б**); в одной хромосоме 2HL и в одной - 7HS (**в**); с интрогрессиями различных размеров в двух гомологах 2HL и маленькие терминальными интрогрессиями - в двух гомологах 5HL (фертильное растение) (**г**); с интрогрессиями 2HL равного размера (стерильное растение) в двух гомологах (**д**); с интрогрессиями различных размеров в двух гомологах 2HL и маленькой терминальной интрогрессией в одном из гомологов 5HL (фертильное растение) (**е**)

**Fig. 3. Localization of *H. bulbosum* genetic material in the chromosomes of introgressive forms of *H. vulgare* in the offspring plants from crossing (*H. vulgare* Roland × (*H. bulbosum* A17 (4x) × *H. vulgare* ‘Borwina’ (4x))**

**а** - in the original plant *H. vulgare* (BC1) with three introgressions localized in chromosomes 2HL, 5HL, 7HS; **б-е** - in plants from self-pollination of BC1 with the introgression in both homologues 2HL and in one of the homologues 7HS - a sterile plant (**б**); in one chromosome 2HL and one 7HS (**в**); with introgressions of various size in two homologues of 2HL and small terminal introgressions in two homologues of 5HL (fertile plant) (**г**); with 2HL introgressions of equal size (sterile plant) in two homologues (**д**); with introgressions of different size in two homologues of 2HL and a small terminal introgression in one of the homologues of 5HL (fertile plant) (**е**)

**Таблица 7. Идентифицированные интрогрессии генетического материала ячменя луковичного у форм в поколении от самоопыления растения BC1 (*H. vulgare* 'Roland' × (*H. bulbosum* A17 (4x) × *H. vulgare* 'Borwina' (4x)).**

**Table 7. Identified introgressions of the genetic material of bulbous barley in offspring plants from self-pollination of BC1 plant (*H. vulgare* 'Roland' × (*H. bulbosum* A17 (4x) × *H. vulgare* 'Borwina' (4x))**

Число растений (№) / Number of plants (No.)	С интрогрессиями / With introgressions			
	Всего / Total	2HL	5HL	7HS
1(74/5)	2	1	0	1 терм
2 (74/7;74/10)	2	1	1	0
1 (74/8)	3	1	1	1 терм
1 (74/9)	3	0	2	1 терм
1 (74/11)	4	2	1	1 терм
1 (74/12)	4	2 разл. разм.	2	0

**Таблица 8. Идентифицированные интрогрессии генетического материала ячменя луковичного во втором поколении от самоопыления растения BC1 *H. vulgare* 'Roland' × (*H. bulbosum* A17 (4x) × *H. vulgare* 'Borwina' (4x))**

**Table 8. Identified introgressions of the genetic material of bulbous barley in F2 from self-pollination of BC1 plant *H. vulgare* 'Roland' × (*H. bulbosum* A17 (4x) × *H. vulgare* 'Borwina' (4x))**

№ растения F <sub>1</sub> / No. of F <sub>1</sub> plants	Число растений F <sub>2</sub> / Number of F <sub>2</sub> plants	С интрогрессиями / With introgressions			
		Всего/ Total	2HL	5HL	7HS
74/11 (2- крупная терм., 1-5HL мал. терм, 1-7HS крупная терм)	1	4	2 терм	1 терм	1 терм.
73/5 (1-2HL крупная терм.)	1	1	0	1 терм	0
	3	1	1 терм	0	0
	2	0	0	0	0
74/12 (2 -2HL крупная терм., 1-5HL мал.терм.)	7	2	2 терм	0	0
	1	3	2 терм	1 терм	0
74/7 (1 -2HL крупная терм., 1-5HL мал.терм)	1	3	2 терм	1 терм	0
	2	2	1 терм	1 терм	0
	1	2	2 терм	0	0
	1	1	1 терм	0	0
74/8 (1- 2HL крупная терм., 1-5HL мал.терм, 1-7HS крупная терм)	1	4	2 терм	1 терм	1 терм.
	1	3	1 терм	1 терм	1 терм.
	1	2	1 терм	1 терм	0
	1	2	1 терм	0	1 терм.
	2	1	1 терм	0	0

Во втором поколении от самоопыления пяти растений с различным сочетанием рекомбинантных хромосом было охарактеризовано 26 растений из пяти семей и выявлено 15 вариантов сочетания рекомбинантных хромосом с чужеродными интрогрессиями генетического

материала ячменя луковичного (табл. 8).

Среди изучаемых растений были выявлены формы с интрогрессиями в обоих гомологах 2HL (см. табл. 8). Характерной особенностью растений с этой интрогрессией является различная фертильности растений (табл. 9).

Таблица 9. Фертильность рекомбинантных форм *H. vulgare* с интрогрессией в обоих гомологах хромосомы 2HL

Table 9. Fertility of *H. vulgare* recombinant forms with introgressions in both homologues of 2HL chromosome

№ растения / Plant No.	Число интрогрессий/ Number of introgressions			Число цветков / Number of flowers	Завязалось зерновок / Seed setting	
	2HL	5HL	7HS		Число / Number	%
73/11	2	1	1	121	1	0,83
s* 73/11 , p 1	2	1	1	218	0	0
74/12	2	2	0	154	17	11,04
s 74/12 p 1	2	0	0	175	55	73,33
s 74/12 p 5	2	1	0	104	0	0
s 74/12 p7	2	0	0	163	7	4,29
s 74/12 p 9	2	0	0	118	66	55,93
s 74/12 p.10	2	0	0	91	7	7,69
s 74/12 p.12	2	0	0	84	1	1,19
73/7	1	1	0	51	44	86,27
s 73/7 p.5	2	0	0	217	0	0
73/8	1	1	1	75	45	61,33
s 73/8 p 6	1	0	1	110	103	93,63
s 73/8 p 1	1	1	0	123	114	92,68
s 73/8 p 5	1	1	1	61	13	21,31
s 73/8 p 6	1	0	7	84	67	79,76
s 73/8 p4	2	1	1	82	72	87,80

s\* – самоопыление / selfing

Растения с интрогрессией в одной из хромосом имели нормальную фертильность. Для растения 73/11 с интрогрессиями исходной формы в обоих гомологах характерна стерильность, единственное растение, полученное в потомстве этого растения, было полностью стерильным. В потомстве растения 74/12 (см. рис. 3г) с различным размером интрогрессированных фрагментов наблюдали растения с различной фертильностью (от 0 до 73,33%), что может быть связано с размерами интрогрессий в 2HL у этих растений. Различие в размерах интрогрессий у гомологов, вероятно, является результатом гомеологичной мейотической рекомбинации в пределах части плеча хромосомы у растений с интрогрессией генетического материала *H. bulbosum* в одном из гомологов.

### Обсуждение

Целью работы было создание новых интрогрессивных форм ячменя на основе ярового сорта 'Roland'. При опылении культурного ячменя пыльцой гибридов были выявлены интрогрессивные формы, что свидетельствует о формировании гибридами полноценных пыльцевых зерен, способных к прорастанию и оплодотворению. Тераплоидный гибрид *H. bulbosum* A17 (4x) × *H. vulgare* 'Borwina' (4x) детально изучен в наших пре-

дыдущих исследованиях (Scholz, Pendinen, 2017). Это – частично фертильное растение, завязывающее зерновки при самоопылении. Поэтому было ожидаемо завязывание семян при опылении культурного ячменя пыльцой этого растения. Пыльца триплоидных гибридов ( $N^2N^bN^b$ ) обычно стерильна (см. рис. 1d Приложения / Supplement, Fig. 1d), но у использованного в скрещиваниях гибридного растения *H. vulgare* 'Roland' (2x) × *H. bulbosum* W851 (4x) в единичных колосьях, цветущих обычно первыми после перезимовки, наблюдали растрескивающиеся пыльники и высыпавшуюся из них пыльцу, часть из которой хорошо выполнена, и, возможно, функциональна (см. рис. 1c Приложения / Supplement, Fig. 1c). Причины формирования такой пыльцы у этого гибрида пока не ясны. Возможно, появление выполненных пыльцевых зерен связано со спонтанной полиплоидизацией на каком-либо этапе развития спорогенной ткани. Кроме того, можно предположить, что при определенных условиях в процессе мейоза не происходит редукция числа хромосом, но при анализе этого растения характерных особенностей мейотического деления, приводящих к нередукции, не выявлено (Pendinen, Scholz, 2020).

Все полученные в результате скрещиваний растения представляли собой культурный ячмень ( $2n=2x=14$ ).

Быстрое получение рекомбинантных форм культурного ячменя *H. vulgare* с интрогрессиями ячменя луковичного на основе триплоидных и тетраплоидных гибридов ( $H^vH^bH^b$  и  $H^bH^bH^vH^v$ ) связано с особенностями взаимодействия геномов этих видов в гибридах, приводящее к элиминации хромосом *H. bulbosum*. (Lange, 1971,6; Но, Kasha, 1975; Fukuyama, Hosoya, 1983; Devaux, 2003). При соотношении геномов  $1H^v : 1H^b$ , в гибридном зародыше во многих комбинациях наблюдается элиминация хромосом ячменя луковичного (Lange, 1971,6; Но, Kasha, 1975; Fukuyama, Hosoya, 1983; Devaux, 2003). При беккроссировании ячменем культурным соотношение числа геномов смещается в сторону увеличения дозы генома ячменя культурного, поэтому в поколении BC1 выявляются только растения *H. vulgare*.

В результате скрещиваний были получены новые интрогрессивные формы на основе ярового ячменя сорта 'Roland'. Обобщая данные о вариантах рекомбинантных хромосом и локализации интрогрессий, трудно сделать заключение о различной частоте встречаемости той или иной рекомбинантной хромосомы или ее плеча, поскольку было выявлено только 10 интрогрессий. Тем не менее, можно отметить тенденцию более частой межгеномной рекомбинации в длинных плечах хромосом – 7 из 10 выявленных интрогрессий локализованы в длинном плече. Причем, каждая из интрогрессий, обнаруженных нами в длинных плечах хромосом 1HL, 5HL, 3HL, встречалась у двух растений. Эта тенденция соответствует данным анализа гомеологичного спаривания хромосом в мейозе у этих гибридов (Pickering et al., 2004, 2006; Scholz, Pendinen, 2017; Pendinen, Scholz, 2020).

Выявление в потомстве от самоопыления растений с интрогрессий в одном из соответствующих гомологов хромосом 5HL, 2HL, 3HS форм с измененным (уменьшенным) чужеродным фрагментом, в сравнении с исходным его размером, свидетельствует о гомеологичном спаривании хромосом и о мейотической рекомбинации в этих участках соответствующих хромосом. Возможно, рекомбинационный процесс связан с наличием в этих участках хромосом *H. vulgare* регионов с высокой рекомбинационной активностью – так называемых hotspots или горячих точек рекомбинации (Künzel et al., 2000). Плечо 5HL *H. vulgare* характеризуется наибольшим количеством таких горячих точек рекомбинации. Поэтому в потомстве растения со значительного размера интрогрессией в одной из 5HL, наличие которой в двух гомологах приводит к летальности, можно ожидать появление растений с измененными размерами и рекомбинантных по разным участкам в пределах интрогрессированного фрагмента, что, в свою очередь, делает возможным получение на основе таких растений жизнеспособных интрогрессивных линий. Изменение размеров интрогрессий в 2HL при мейотической рекомбинации и получение растений с различной локализацией сайтов рекомбинации в пределах чужеродной вставки позволит создать фертильные линии с рекомбинантными хромосомами 2HL.

## Заключение

Новые интрогрессивные формы ярового ячменя *H. vulgare* с фрагментами генетического материала ячменя луковичного *H. bulbosum* были получены при скрещивании культурного ячменя с двумя межвидовыми гибридами *H. vulgare* 'Roland' × (*H. vulgare* 'Roland' (2x) × *H. bulbosum* W851 (4x)) ( $H^vH^bH^b$ ), *H. vulgare* 'Roland' × (*H. bulbosum* A17 (4x) × *H. vulgare* 'Borwina'(4x)) ( $H^bH^bH^vH^v$ ). Выявлены растения с интрогрессиями в трех хромосомах 1HL, 5HL, 3HS – при использовании в скрещивании триплоидного гибрида, а при использовании в скрещивании тетраплоидного гибрида – в хромосомах 2HL, 5HL, 7HS. В потомстве первого растения, в случае сочетания в кариотипе обоих гомологов с интрогрессией 5HL исходного размера, наблюдали летальность на стадии развития второго листа. У ряда растений отмечено уменьшение исходного размера интрогрессий в 5HL, среди них выявлены жизнеспособные формы с двумя интрогрессиями различных размеров в этом плече хромосомы, которые могут быть использованы в отборе интрогрессивных линий с рекомбинантной хромосомой 5HL.

Для растений с сочетанием в кариотипе интрогрессии 2HL в обоих гомологах характерна практически полная стерильность. Для форм с уменьшенным размером терминального интрогрессированного фрагмента этой хромосомы хотя бы в одном из гомологов, стерильность колоса не характерна. Таким образом, в процессе дальнейшего отбора возможно получить интрогрессивные линии с рекомбинантной хромосомой 2HL, характеризующиеся нормальной фертильностью.

Выявленные в потомстве от самоопыления исходных интрогрессивных форм растения ячменя с меньшим, в сравнении с исходным размером, чужеродным фрагментом в хромосомах 5HL, 2HL, 3HS свидетельствуют о гомеологичной рекомбинации в мейозе в этом участке хромосомы. Путем отбора в первом и втором поколениях от самоопыления этих растений создана серия фертильных форм культурного ячменя с различным сочетанием рекомбинантных хромосом в кариотипе.

## References / Литература

- Bothmer R., Jacobsen N., Baden C., Jorgensen R.B., Lindelaursen I. An ecogeographical study of genus *Hordeum*. Rome: International Plant Genetic Resources Institute; 1991.
- Bothmer R., Seberg O., Jacobsen N. Genetic resources in the *Triticeae*. *Hereditas*. 1992;(116):141-150. DOI: 10.1111/j.1601-5223.1992.tb00814.x
- Brown S.E., Stephens J.L., Lapitan N.L.V., Knudson D.L. FISH landmarks for barley chromosomes (*Hordeum vulgare* L.). *Genome*. 1999;42(2):274-281. DOI: 10.1139/g98-127
- Devaux P. The *Hordeum bulbosum* (L.) method. In: Maluszynski M. et al. (eds.). Doubled Haploid Production in Crop. Dordrecht; Boston: IAEA; 2003. p.15-19. DOI: 10.1007/978-94-017-1293-4\_3
- Fukuyama T., Hosoya H. Genetic control and mechanism of chromosome elimination in the hybrids between *Hordeum bulbosum* (4x) and *H. vulgare* (4x). *The Japanese Journal of*

- Genetics*. 1983;58(3):241-250. DOI: 10.1266/jjg.58.241
- Gottlob-McHugh S., Levesque M., MacKenzie K., Olson M., Yarosh O., Johnson D. Organization of the 5S rRNA genes in the soybean *Glycine max* (L.) Merrill and conservation of the 5SrDNA repeat structure in higher plants. *Genome*. 1990;33(4):486-494. DOI: 10.1139/g90-072
- Hoseinzadeh P., Ruge-Wehling B., Schweizer P., Stein N., Pidon H. High resolution mapping of a *Hordeum bulbosum*-derived powdery mildew resistance locus in barley using distinct homologous introgression lines. *Frontiers in Plant Science*. 2020;11:225. DOI: 10.3389/fpls.2020.00225
- Ho K.M., Kasha K.J. Genetic control of chromosome elimination during haploid formation in barley. *Genetics*. 1975;81(2):263-275.
- Jones I.T., Pickering R.A. The mildew resistance of *Hordeum bulbosum* and its transference into *H. vulgare* genotypes. *Annals of Applied Biology*. 1978;88(2):295-298. DOI: 10.1111/j.1744-7348.1978.tb00709.x
- Johnston P.A., Pickering R.A. PCR detection of *Hordeum bulbosum* introgression in a *H. vulgare* background using a retrotransposon-like sequence. *Theoretical and Applied Genetics*. 2002;104(4):720-726. DOI: 10.1007/s00122-001-0791-2
- Lange W. Crosses between *Hordeum vulgare* L. and *H. bulbosum* L. I. Production, morphology and meiosis of hybrids, haploids and dihaploids. *Euphytica* 1971a;20:14-29. DOI: 10.1007/BF00146769
- Lange W. Crosses between *Hordeum vulgare* L. and *H. bulbosum* L. II. Elimination of chromosomes in hybrid tissues. *Euphytica*. 1971b;20:181-194. DOI: 10.1007/BF00056078
- Leitch A.R., Schwarzacher T., Jackson D., Leitch I.J. *In situ* hybridization: a practical guide. Royal Microscopical Society: Microscopy Handbooks, no. 27. Oxford: BIOS Scientific Publishers; 1994.
- Michel M. Untersuchungen zur Übertragung von Resistenzgenen aus der Wildart *Hordeum bulbosum* L. in die Kulturgerste *Hordeum vulgare* L. PhD Thesis, Lehrstuhl für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung. München, Germany: Technische Universität; 1996. [in Deutsch]
- Pendinen G.I., Chernov V.E., Scholz M. Biological characterization of introgressive barley lines obtained on the basis of the interspecific hybrid *Hordeum vulgare* L. × *H. bulbosum* L. (H<sup>a</sup>H<sup>b</sup>H<sup>b</sup>). *Plant Biotechnology and Breeding*. 2018;1(1):16-24. [in Russian] (Пендинен Г.И., Чернов В.Е., Шольц М. Характеристика интрогрессивных линий ячменя, полученных на основе межвидового гибрида *Hordeum vulgare* L. × *H. bulbosum* L. (H<sup>a</sup>H<sup>b</sup>H<sup>b</sup>). *Биотехнология и селекция растений*. 2018;1(1):16-24). DOI: 10.30901/2658-6266-2018-1-16-24
- Pendinen G.I., Scholz M. Homoeologous chromosome pairing at metaphase I of meiosis in *Hordeum vulgare* L. × *H. bulbosum* L. triploid hybrids (H<sup>a</sup>H<sup>b</sup>H<sup>b</sup>). *Plant Biotechnology and Breeding*. 2020;3(2):6-15. [in Russian] (Пендинен Г.И., Шольц М. Спаривание гомеологических хромосом в метафазе I у триплоидных гибридов *Hordeum vulgare* L. × *H. bulbosum* L. (H<sup>a</sup>H<sup>b</sup>H<sup>b</sup>). *Биотехнология и селекция растений*. 2020;3(2):6-15. DOI: 10.30901/2658-6266-2020-2-02
- Pickering R., Ruge-Wehling B., Johnston P.A., Schweizer G., Ackermann P., Wehling P. The transfer of a gene conferring resistance to scald (*Rhynchosporium secalis*) from *Hordeum bulbosum* into *H. vulgare* chromosome 4HS. *Plant Breeding*. 2006;125:576-579. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2006.01253.x
- Pickering R.A. The production of fertile triploid hybrids between *Hordeum vulgare* L. (2n=2x=14) and *H. bulbosum* L. (2n=4x=28). *Barley Genetics Newsletter*. 1988;18:25-29.
- Pickering R.A., Hudakova S., Houben A., Johnston P., Butler R.C. Reduced metaphase I associations between the short arms of homoeologous chromosomes in a *Hordeum vulgare* L. × *H. bulbosum* L. diploid hybrid influences the frequency of recombinant progeny. *Theoretical and Applied Genetics*. 2004;109(5):911-916. DOI: 10.1007/s00122-004-1725-6
- Pickering R.A., Klatte S., Butler R.C. Reduced chromosome association between the short arms of 5H homologues in *Hordeum vulgare* L. at metaphase I. *Plant Breeding*. 2005;124(4):416-418. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2005.01122.x
- Pickering R.A., Klatte S., Butler R.C. Identification of all chromosome arms and their involvement in meiotic homoeologous associations at metaphase I in 2 *Hordeum vulgare* L. × *Hordeum bulbosum* L. hybrids. *Genome*. 2006;49(1):73-78. DOI: 10.1139/G05-071
- Pickering R.A., Malyshev S., Kunzel G., Johnston P.A., Korzun V., Menke M., Schubert I. Locating introgressions of *Hordeum bulbosum* chromatin within the *H. vulgare* genome. *Theoretical and Applied Genetics*. 2000;100(1):27-31. DOI: 10.1007/PL00002904
- Pickering R.A., Timmerman G.M., Cromey M.G., Melz G. Characterisation of progeny from backcrosses of triploid hybrids between *Hordeum vulgare* L.(2x) and *H. bulbosum* L.(4x) to *H. vulgare*. *Theoretical and Applied Genetics*. 1994;88(3-4):460-464. DOI: 10.1007/BF00223661
- Pidon H., Wendler N., Habekuß A., Maasberg A., Ruge-Wehling B., Perovic D., Ordon F., Stein N. High-resolution mapping of *Rym14Hb*, a wild relative resistance gene to barley yellow mosaic disease. *Theoretical and Applied Genetics*. 2021;134:823-833. DOI: 10.1007/s00122-020-03733-7
- Ruge B., Linz A., Pickering R., Proeseler G., Greif P., Wehling P. Mapping of *Rym14Hb*, a gene introgressed from *Hordeum bulbosum* and conferring resistance to BaMMV and BaYMV in barley. *Theoretical and Applied Genetics*. 2003;107(6):965-971. DOI: 10.1007/s00122-003-1339-4
- Ruge-Wehling B., Linz A., Habekuß A., Wehling P. Mapping of *Rym16Hb*, the second soil-born virus-resistance gene introgressed from *Hordeum bulbosum*. *Theoretical and Applied Genetics*. 2006;113(5):867-873. DOI: 10.1007/s00122-006-0345-8
- Scholz M., Pendinen G. The Effect of Homoeologous Meiotic Pairing in Tetraploid *Hordeum bulbosum* L. × *H. vulgare* L. Hybrids on Alien Introgressions in Offspring. *Cytogenetic and Genome Research*. 2017;150(2):139-149. DOI: 10.1159/000455141
- Scholz M., Ruge-Wehling B., Habekuß A., Schrader O., Pendinen G., Fischer K., Wehling P. *Ryd4Hb*: a novel resistance gene introgressed from *Hordeum bulbosum* into barley and conferring complete and dominant resistance to the barley yellow dwarf virus. *Theoretical and Applied Genetics*. 2009;119(5):837-849. DOI: 10.1007/s00122-009-1093-3
- Shtaya M.J.Y., Sillero J.C., Flath K., Pickering R., Rubeales D. The resistance to leaf rust and powdery mildew of recombinant lines of barley (*Hordeum vulgare* L.) derived from *H. vulgare* × *H. bulbosum* crosses. *Plant Breeding*. 2007;126(3):259-267. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2007.01328.x
- Wendler N., Mascher M., Himmelbach A., Bini F., Kumlehn J., Stein N. A high-density, sequence-enriched genetic map of *Hordeum bulbosum* and its collinearity to *H. vulgare*. *The Plant Genome*. 2017;10(3):1-11 DOI: 10.3835/plantgenome2017.06.0049
- Yakura K., Tanifuji S. Molecular cloning and restriction analysis of *Eco* RI-fragments of *Vicia faba* rDNA. *Plant Cell Physiology* 1983;24(7):1327-1330. DOI: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a076650



## СЕЛЕКЦИЯ ДЕКОРАТИВНЫХ РАСТЕНИЙ В РОССИИ

Рахмангулов Р. С.<sup>1\*</sup>, Тихонова Н. Г.<sup>1,2</sup>

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

\*  r.rakhmangulov@vir.nw.ru

<sup>2</sup>Научно-технологический университет «Сириус», направление «Биология и биотехнология растений», 354340, г. Сочи, Олимпийский пр., д. 1

Селекция декоративных растений как отрасль растениеводства является неотъемлемой составляющей комплекса мер, направленных на получение широкого ассортимента различных растений с высокими декоративными характеристиками. Основная задача данного направления заключается в создании растений, привлекательных для потребителя, и коммерческом плане характеризующихся ценными биологическими признаками – адаптивностью, устойчивостью к болезням, вредителям, морозостойкостью и другими. Большинство сортов декоративных растений были получены с помощью традиционных методов селекции, таких, как отбор, отдаленная гибридизация, клоновая селекция, индуцированный мутагенез под воздействием радиации или химических веществ. Однако применение традиционных инструментов селекции ограничено потенциалом внутривидовой изменчивости. Разработка современных биотехнологических и генетических подходов к созданию новых сортов позволило изменять генотип растений на качественно новом уровне. В данном обзоре освещены направления и методология современной селекции декоративных растений в России, способы мобилизации генетических ресурсов основных декоративных культур, таких, как роза, клематис, канна, хризантема, пеларгония, ирис, лилейник, тюльпан, сирень, рододендрон. Приведены примеры селекционной работы с декоративными растениями в ведущих профильных научных учреждениях, таких, как Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени им. К.А. Тимирязева, Федеральный научный центр им. И.В. Мичурина, Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН, Субтропический научный центр РАН, Ботанический сад Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Всероссийский НИИ табака, махорки и табачных изделий. Также кратко отражены мировой и российский рынки цветочной декоративной продукции, проблематика и способ решения вопроса качественного импортозамещения, перспективы развития цветоводства в России в обозримом будущем.

**Ключевые слова:** генетические ресурсы растений, цветочно-декоративные культуры, гибридизация, биотехнология, трансформация.

### Для цитирования:

Рахмангулов Р.С., Тихонова Н.Г. Селекция декоративных растений в России. *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(4):40-54. DOI: 10.30901/2658-6266-2021-4-04

**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/10.30901/2658-6266-2021-4-04> **Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы. Все авторы одобрили рукопись. Конфликт интересов отсутствует.**

**Благодарности:** Авторы выражают признательность М.В. Васильевой, О.И. Пащенко, Н.М. Гутиевой, М.С. Успенской, Т.М. Коломиец за предоставление фотографий отечественных сортов декоративных растений. Статья подготовлена в рамках государственного задания ВИР согласно тематическому плану НИР по теме № 0481-2019-0001 «Геномные и постгеномные технологии для выявления новых генетических маркеров селекционно-значимых свойств и новых аллельных вариантов хозяйственно ценных генов в генофонде культурных растений и их диких родичей».

---

## BREEDING OF ORNAMENTAL PLANTS IN RUSSIA

Rakhmangulov R. S.<sup>1\*</sup>, Tikhonova N. G.<sup>1,2</sup>

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

\* ✉ r.rakhmangulov@vir.nw.ru

<sup>2</sup>Plant Biology and Biotechnology Department, Sirius University of Science and Technology,  
1, Olympiyskiy Prospekt, Sochi 354340, Russia

The breeding of ornamental plants as a branch of crop production is an integral part of the set of measures aimed at obtaining a wide range of different plants with high decorative characteristics. The main objective of this branch is the creation of plants that are attractive to the consumer and commercially characterized by such valuable biological features as adaptability, resistance to diseases, pests, frost and others. Most ornamental plant varieties were bred by means of traditional breeding methods such as selection, distant hybridization, clone breeding, radiation and chemically induced mutagenesis. However, the use of traditional breeding tools is limited by the potential for intraspecific variability. The development of modern biotechnological and genetic approaches to the breeding of new varieties has made it possible to modify the plant genotype at a qualitatively new level. The present review covers the directions in and methodology of modern ornamental plant breeding in Russia, ways of mobilizing the genetic resources of the main ornamental crops such as rose, clematis, canna, chrysanthemum, pelargonium, iris, daylily, tulip, lilac, and rhododendron. Also, the review offers examples of ornamental plant breeding work underway in the leading specialized scientific institutions such as the Russian State Agrarian University – the K.A. Timiryazev Moscow Agricultural Academy, I.V. Michurin Federal Research Centre, Nikitsky Botanical Gardens – National Scientific Center of the RAS, Subtropical Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Botanical Garden of the M.V. Lomonosov Moscow State University, All-Russian Scientific Research Institute of Tobacco, Mahorka and Tobacco Products. The world and Russian flower and ornamental plant markets, the problem and methods of resolving the issue of quality import substitution, and prospects for the development of floriculture in Russia in the foreseeable future are also briefly considered.

**Key words:** plant genetic resources, ornamental crops, hybridization, biotechnology, transformation.

### For citation:

Rakhmangulov R.S., Tikhonova N.G. Breeding of ornamental plants in Russia. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(4):40-54. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-4-04

**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/10.30901/2658-6266-2021-4-04> **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:

Tikhonova N.G. <https://orcid.org/0000-0001-7098-7662>

УДК 631.52:635.9

Поступила в редакцию: 13.12.2021

Принята к публикации: 29.12.2021

---

**Acknowledgments:** The authors are grateful to M.V. Vasilyeva, O.I. Pashchenko, N.M. Gutieva, M.S. Uspenskaya, T.M. Kolomiets for providing photographs of home bred varieties of decorative plants. The article was prepared as part of the State Assignment to VIR in accordance with the R&D Thematic Plan Topic No. 0481-2019-0001 “Genomic and post-genomic technologies for identifying new genetic markers for properties of importance for breeding and new allelic variants of economically important genes in the gene pools of crops and their wild relatives”.

## Введение

История взаимодействия людей и растений насчитывает не одно тысячелетие. В процессе селекции и отбора лекарственных и пригодных в пищу растений у некоторых образцов были выявлены ценные и доставляющие эстетическое удовольствие декоративные признаки цветов, плодов, листьев или побегов. В результате этого был произведен сбор растений со всего мира, послуживших исходной формой для многих тысяч сортов декоративных культур. Применение декоративных растений охватывает различные социальные сферы человека, среди которых ландшафтное проектирование общественных пространств, дизайн интерьеров, фитодизайн, составление букетов, любительское цветоводство и другие области применения. В мировой практике, благодаря выстроенной системе взаимодействия научных учреждений, селекционных центров, частных компаний и питомников, цветоводство стало весомой составляющей экономики. Благодаря этому получено значительное разнообразие форм и сортов декоративных растений, а селекционный процесс по выведению новых сортов не останавливается и развивается в соответствии с современными веяниями моды. В настоящее время общий объем мирового производства декоративных растений, в том числе и срезки составляет порядка \$40–45 млрд. В лидерах числятся три компании: Ball Horticultural (США), Syngenta Flowers (Швейцария), Dummen Orange (Голландия) (Flowers. Market of Russia and the World, 2021). Российский рынок состоит более чем на 80% из импортной продукции. Так, в 2020 году импорт только срезанных цветочных культур составил 1077,82 млн шт., что составляет 19,9 млрд руб. По состоянию на 2021 год, в России функционирует свыше 80 тепличных предприятий, валовый сбор которых за 2020 год составил 270,78 млн шт., то есть 15% потребности в цветочной продукции (Flower production market in Russia, 2021). Однако функционирование подобных предприятий осуществляется в основном за счет растительного материала и сортов зарубежной селекции, что в свою очередь уменьшает долю отечественной продукции на Российском рынке. Для качественного импортозамещения необходимо принять кардинальные меры. Решение данной проблемы заключается в использовании современных методов биотехнологии и молекулярной биологии в селекции декоративных культур на базе коллекций генетических ресурсов растений ведущих научных учреждений России с последующим внедрением новых сортов в промышленное производство.

Бурное развитие промышленного цветоводства в России с привлечением традиционных методов селекции приходится на начало 60-х годов XIX столетия. Именно тогда, ввиду нехватки отечественной продукции, начался ввоз импортного материала. Для увеличения доли отечественной продукции на Российском рынке были приняты соответствующие меры, а именно: активное изу-

чение и интродукция зарубежного материала; реорганизация и перепрофилирование научных учреждений; активная мобилизация ресурсов южных регионов страны, благоприятных для возделывания декоративных культур. В результате были заложены основы для создания промышленного цветоводства. Особое внимание было уделено решению сложнейших задач по подбору, изучению, внедрению в производство наиболее ценных сортов цветочно-декоративных культур, созданию отечественных сортов ряда перспективных культур. Были разработаны современные технологии возделывания посадочного материала и срезочной продукции для круглогодичного обеспечения рынка цветами и посадочным материалом (Ryndin et al., 2007).

В настоящее время в России селекционная работа ведется в отношении ряда декоративных кустарников, плодовых, луковичных, многолетних травянистых и однолетних культур. В своем большинстве селекция декоративных растений проводится в таких научных учреждениях, как Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева, Федеральный научный центр им. И.В. Мичурина, Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН, Всероссийский НИИ цветоводства и субтропических культур (ныне Субтропический научный центр РАН), Ботанический сад Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Всероссийский НИИ табака, махорки и табачных изделий, а также другие профильные сельскохозяйственные НИИ и ботанические сады России. Привлечение передовых биотехнологических подходов в селекцию декоративных растений является неотъемлемой составляющей комплекса мер, направленных на получение широкого ассортимента цветочных культур с качественно новыми декоративными характеристиками (Klimenko et al., 2017; Ryndin et al., 2021).

## Направления в селекции декоративных культур

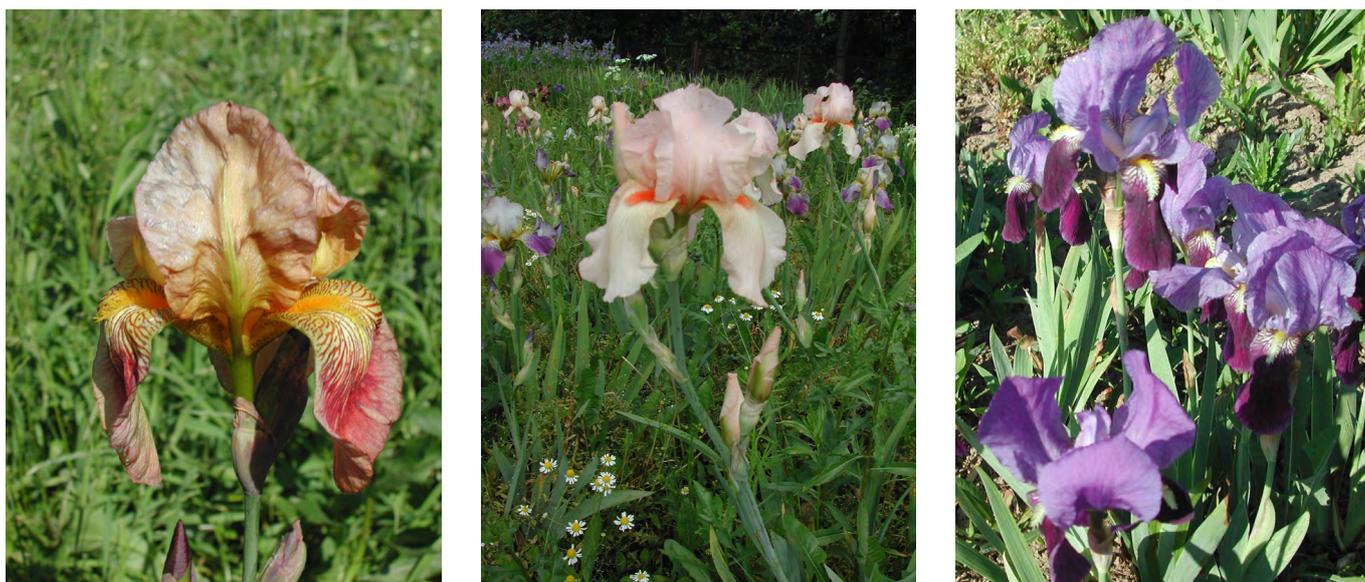
Среди основных цветочно-декоративных культур – такие, как роза, клематис, канна, хризантема, пеларгония, ирис, лилейник, тюльпан, сирень, рододендрон и другие. Общие тенденции традиционных методов селекции декоративных культур (таблица) заключаются в получении сортов с декоративными листьями, побегами, цветками, оригинальной формой и окраской цветков и всего растения, оптимальным габитусом растения, с определенным сроком и длительностью цветения, наличием или отсутствием аромата, а также с комплексной устойчивостью к биотическим и абиотическим факторам среды (Kireeva, 1984; Bratukhina, Lepilov, 2001; Bolgov, 2004; Mokhno et al., 2008; Bratukhina, Mokhno, 2015; Shigapov, 2011; Lepilov, 2012; Pugacheva, 2012; 2014; Ryndin, Mokhno, 2012; Isachkin et al., 2014; Mironova, Reut, 2014; Mishukova, Khrynova, 2014; Plugatar, 2015; Dolganova, 2016; Klimenko et al., 2017; Mokhno

et al., 2017; Tukhvatullina, Mironova, 2017; Baranova, 2018; Kasperavichus, Slepchenko, 2018; Slepchenko, Shoshina, 2018; Kozina, 2020; Pashchenko, 2020; Leunov, Khanbabaeva, 2021; Slepchenko, Pashchenko, 2021; Ryndin et al., 2021).

Так, селекция роз *Rosa* L. направлена на создание высокодекоративных сортов с различной окраской и формой цветка, ароматом, длительным, многократным, обильным цветением и устойчивостью к фитопатогенам.

В селекции ириса *Iris* L. (рис. 1) большое внимание

уделяется получению сортов с цветками чистых ярких окрасок, в том числе чисто красных и зеленых, а также улучшению формы цветка, направленному на создание цветков с плотными, широкими долями околоцветника, имеющими складки, гофрировку или кружева по краю лепестков. Значимым признаком является сомкнутость верхних долей околоцветника и пространственное расположение нижних долей (Dolganova, 2016; Klimenko et al., 2017; Slepchenko, Shoshina, 2018).



**Рис. 1. Сорта ирисов отечественной селекции**

Слева направо: ‘Андрей Князев’ (А), ‘Маршалл Покрышкин’ (М), ‘Золотая борода’ (Z)  
Автор сортов А, Z – Г.И. Родионенко, авторы сорта М – И.В. Дрягина, Г.Е. Казаринов  
(фото любезно предоставлены младшим научным сотрудником ВИР М.В. Васильевой).

**Fig. 1. Iris varieties of Russian breeding**

From left to right: ‘Andrei Knyazev’ (A), ‘Marshall Pokryshkin’ (M), ‘Zolotaya borodka’ (Z)  
The Author of varieties A, Z – G.I. Rodionenko, M variety Authors – I.V. Dryagina, G.E. Kazarinov  
(photos courtesy of VIR junior researcher M.V. Vasilyeva).

При выведении новых сортов петунии *Petunia* Juss. (рис. 2) одним из направлений является получение растений с яркой окраской венчика и пыльца, наличием аромата, большим количеством побегов на растении, одновременным раскрытием цветков и общим количеством цветков за сезон вегетации, с большой семенной продуктивностью и другими хозяйственно ценными признаками (Baranova, 2018).

Частным направлением в современной селекции является получение однотонных истинно красных, желтых цветков у клематиса *Clematis* Dill. ex L., канн *Canna* L., голубого лилейника *Heimerocallis* L., белой фрезии *Freesia* Eckl. ex Klatt (рис. 3) (Bratukhina, Lepilov, 2001; Lepilov, 2012; Klimenko et al., 2017; Pashchenko, 2020;

Ryndin et al., 2021).

В целом отечественные программы селекции охватывают многие виды из групп декоративных кустарников, плодовых, луковичных, многолетних травянистых и однолетних культур.

### Традиционные методы селекции (гибридизация и отбор)

Основным методом селекции декоративных культур является сочетание внутривидовой гибридизации и отбора, благодаря которому были идентифицированы новые доноры и источники ценных признаков.



**Рис. 2. Различные формы и окраски цветков петунии**  
(фото Р.С. Рахмангулова).

**Fig. 2. Different shapes and colours of petunia flowers**  
(Photos by R.S. Rakhmangulov).



**Рис. 3. Сорты фрезии отечественной селекции.**  
Слева направо: 'Ангел', 'Золото Амписалиды', 'Татьяна'  
(фото любезно предоставлены О.И. Пашенко).

**Fig. 3. Freesia varieties of Russian breeding.**  
From left to right: 'Angel', 'Zoloto Ampsalidy', 'Tatyana'  
(photos courtesy of O.I. Pashchenko).

**Таблица. Основные направления селекции декоративных культур в России**  
**Table. The main directions in ornamental crop breeding in Russia**

Культура Crop	Признак Character						Ссылка Reference
	Цветок Flower			Растение Plant			
	Окраска цветка Flower color	Форма цветка Flower shape	Аромат Fragrance	Длительность цветения Flowering duration	Габитус Habitus	Адаптив- ность Adaptivity	
<b>Рододендрон</b> <i>Rhododendron</i> L.	+	+		+		+	Mishukova, Khrynova, 2014
<b>Роза</b> <i>Rosa</i> L.	+	+	+	+	+	+	Klimenko et al., 2017
<b>Клематис</b> <i>Clematis</i> Dill. ex L.	+	+		+		+	Klimenko et al., 2017
<b>Сирень</b> <i>Syringa</i> L.	+	+		+		+	Klimenko et al., 2017
<b>Канна</b> <i>Canna</i> L.	+				+	+	Klimenko et al., 2017
<b>Ирис</b> <i>Iris</i> L.	+	+		+	+	+	Slepchenko, Shoshina, 2018
<b>Лилейник</b> <i>Heimerocallis</i> L.	+	+		+		+	Lepilov, 2012
<b>Гербера</b> <i>Gerbera</i> Gronov. L.	+	+		+		+	Mokhno et al., 2008
<b>Хризантема</b> <i>Chrysanthemum</i> L.	+	+		+	+	+	Klimenko et al., 2017
<b>Тюльпан</b> <i>Tulipa</i> L.	+	+		+	+	+	Bratukhina, Lepilov et al., 2001
<b>Фрезия</b> <i>Freesia</i> Eckl. ex Klatt	+	+	+			+	Pashchenko, 2020
<b>Нарцисс</b> <i>Narcissus</i> L.	+	+			+	+	Kasperavichus, Slepchenko, 2018
<b>Лилия</b> <i>Lilium</i> L.	+	+	+	+		+	Pugacheva, 2012
<b>Гладиолус</b> <i>Gladiolus</i> L.	+	+		+	+	+	Pugacheva, 2014
<b>Гиппеаструм</b> <i>Hippeastrum</i> Herb.	+	+		+	+	+	Bolgov, 2004
<b>Анемона</b> <i>Anemone</i> L.	+	+		+		+	Kozina, 2020
<b>Лютик</b> <i>Ranunculus</i> L.	+	+		+		+	Kozina, 2020
<b>Пеларгония</b> <i>Pelargonium</i> L'Hér. ex Ait.	+	+	+			+	Gutieva, 2018
<b>Львиный зев</b> <i>Antirrhinum</i> L.	+				+	+	Isachkin et al., 2014
<b>Астра</b> <i>Callistephus</i> Cass.	+	+			+	+	Pugacheva, 2014
<b>Петуния</b> <i>Petunia</i> Juss.	+	+	+	+	+	+	Baranova, 2018
<b>Пенстемон</b> <i>Penstemon</i> Schmidel	+				+	+	Leunov, Khanbabaeva, 2021

С использованием этого метода было получено большинство сортов роз, ирисов, гладиолусов, гвоздик, георгин, флоксов (рис. 4) и других декоративных культур.

Основой другого метода, используемого в селекции декоративных культур, является отдаленная гибридизация. Вовлечение в селекционный процесс дикорастущих видов путем межвидовой и межродовой гибридизации способствует расширению генетического разнообразия и возможных вариаций при получении нового сорта у таких культур как орхидеи, розы, рододендроны, георгин, гладиолусы и фиалки (Botelho et al., 2015).

Наряду с традиционными декоративными культурами, в селекционный процесс вовлекаются такие виды, как белоцветник летний *Leucojum aestivum* L., бруннера крупнолистная *Brunnera macrophylla* (Adams) Jonst., гвоздика имеретинская *Dianthus imereticus* (Rupr.) Schischk., герань кроваво-красная *Geranium sanguineum* L., горя-

ка колхидская *Epimedium colchicum* (Boiss.) Trautv., иберис крымский *Iberis taurica* Dc., ирис болотный *Iris pseudacorus* L., ирис колхидский *I. colchica* Kem.-Nath., мачок желтый *Glaucium flavum* Crantz, первоцвет Сибторпа *Primula sibthorpii* Hoff., скабиоза Ольги *Scabiosa olgae* Albov, солнцезвезд монетнолистный *Helianthemum nummularium* (L.) Mill. (Evsyukova et al., 2009).

В Субтропическом научном центре РАН с помощью межвидовых скрещиваний ведется селекция представителей рода *Pelargonium* L.'Herit. ex Ait. (рис. 5.) Основные направления селекции пеларгонии – создание сортов с яркой, оригинальной окраской не только цветков, но и листьев, наличием приятного аромата, а также с редкой формой цветка, обильным и продолжительным цветением (Gutieva, 2018; 2019; 2020).



**Рис. 4. Сорта флоксов отечественной селекции.**

Слева направо: 'Алёнушка' (А), 'Краса' (К), 'Мишенька' (М)

Авторы сортов – Б.В. Квасников (А), Н.С. Краснова (К), М. Дронов (М)

(фото любезно предоставлены младшим научным сотрудником ВИР М.В. Васильевой).

**Fig. 4. Phlox varieties of Russian breeding.**

From left to right: 'Alyonushka' (A), 'Krasa' (K), 'Mishen'ka' (M)

Authors of varieties – B.V. Kvasnikov (A), N.S. Krasnova (K), M. Dronov (M)

(photos courtesy of VIR junior researcher M.V. Vasilyeva).



**Рис. 5. Сорт пеларгонии ‘Колибри’**  
*(P. crispum (P.J. Bergius) L'Hér. × ‘A. Moon Maiden’)*  
 Общий вид - слева, справа - увеличенное изображение цветков.  
 (фото любезно предоставлены Н.М. Гутиевой).

**Fig. 5. Pelargonium variety ‘Kolibri’**  
*(P. crispum (P.J. Bergius) L'Hér. × ‘A. Moon Maiden’)*  
 Left – general view, right – enlarged image of a flower  
 (photos courtesy of N.M. Gutieva).

В Ботаническом саду Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова и Южно-Уральском ботаническом саду-институте проводятся работы по селекции пионов (Shigarov, 2011; Mironova, Reut, 2013; Uspenskaya, Murashev, 2017). Межвидовая гибридизация травянистых и древовидных пионов *Paeonia* L. (рис. 6.) привела к получению сортов с прочным цветоносом, однотонно окрашенным цветком, в том числе и с чисто желтой окраской, высоким коэффициентом размножения, устойчивых к различным заболеваниям и факторам окружающей среды (Uspenskaya, Murashev, 2017). Определены виды, а именно – *Paeonia lactiflora* Pallas, *P. tenuifolia* L., *P. anomala* L., *P. mlokosevitchii* Lomakin – наиболее значимые, при скрещивании, для получения раннецветущих сортов (Uspenskaya, Murashev, 2019 a; b).

Во всероссийском НИИ табака, махорки и табачных изделий получены межвидовые гибриды декоративного табака – *Nicotiana glauca* Link et Otto, *N. glauca* var. *grandiflora* Comes, *N. glauca* var. *forgetiana* Hort. ex Hemsl., *N. glauca* var. *sanderae* W. Watson, *N. glauca* var. *langsdorffii* Weinm – с компактным габитусом и соцветием, многоцветковостью, оригинальной яркой окраской цветков, приятным ароматом, высокой адаптивностью к факторам окружающей среды (Baranova, 2018).

С помощью метода межродовой гибридизации в мировой практике получено множество перспектив-

ных сортов декоративных культур, среди которых представители семейства геснериевые (*Gesneriaceae* Dumort.), орхидные (*Orchidaceae* Juss.) и другие.

На сегодняшний день методы гибридизации являются наиболее распространенными в большинстве отечественных селекционных программ по изменению хозяйственно-ценных признаков декоративных растений. Однако данный метод имеет ряд недостатков, среди которых чрезмерная длительность и трудоемкость.

#### Биотехнологические методы

Поскольку в традиционном селекционном процессе период создания новых сортов зависит от сроков вступления соответствующего вида растения в генеративную фазу и длительности последующего отбора перспективных образцов, последнее может занять от 4-х до 12-и лет, все большее значение приобретает использование методов биотехнологии для ускорения селекционного процесса (Mokhno, Bratukhina, 2010; Medvedeva et al., 2012).

Одним из значимых прикладных аспектов в селекционных программах являются современные биотехнологические методы, которые позволяют сохранять ценные гибридные образцы, увеличивать коэффициент микроклонального размножения и получать генетически однородный материал. Использование биотехнологических методов культуры растительных клеток и тканей обе-

спечивает возможность круглогодичного проведения селекционного процесса, получение гибридных семян из зародышей при отдаленной гибридизации, которые зачастую, при традиционных методах селекционной работы, бывают нежизнеспособными, соматоклональных образцов и соматических гибридов, а также позволяет создавать растительный материал с измененным числом хромосом.

Так, с помощью прямого и непрямого соматического эмбриогенеза из листовых эксплантов, в Никитском ботаническом саду разработана система получения растений-регенерантов клематиса *Clematis* Dill. ex L., каладиума *Caladium* Vent. и других декоративных культур

в условиях *in vitro* (Mitrofanova, 2009). В Субтропическом научном центре РАН разработаны методические рекомендации получения растений фрезии при культивировании изолированных семяпочек и выращивания гибридных растений тюльпанов с использованием культуры изолированных зародышей, полученных при отдаленной гибридизации и в результате разноплоидных скрещиваний. Таким же образом разработаны биотехнологические приемы повышения регенерационной способности герберы *in vitro* для последующего создания трансгенных растений (рис. 7) (Kolomiets, Mokhno, 2000; Mokhno et al., 2004; Arutyunova, Mokhno, 2009; Kolomiets et al., 2009).



**Рис. 6. Пион древовидный *Paeonia* × *suffruticosa* Andrews ‘Академик Садовничий’**

Сорт создан в 2006 году Марианной Сергеевной Успенской, МГУ.  
Слева – общий вид растений, справа – цветок  
(фото любезно предоставлены М.С. Успенской).

**Fig. 6. *Paeonia* × *suffruticosa* Andrews ‘akademik Sadovnichij’**

The variety was created in 2006 by Mariana Sergeevna Uspenskaya, MSU.  
On the left – the general view of plants, on the right – the flower.  
(photos courtesy of M.S. Uspenskaya).

В целом, технологические регламенты полного цикла микроклонального размножения разработаны для множества декоративных культур, среди которых хризантема, роза, лилейник, пион, ирис, рододендрон, сирень, клематис, петуния, львиный зев, декоративный табак и другие. Так разработана система депонирования и длительного хранения в условии *in vitro* цветочно-декоративных культур, а также эндемичных представителей

флоры Крыма и Западного Кавказа, среди которых гербера (Kolomiets et al., 2009) синеголовник приморский (*Eryngium maritimum* L.) (Kolomiets et al., 2014), лаванда узколистная (*Lavandula angustifolia* Mill.), лавандин (*Lavandula* × *intermedia* Emeric ex Loisel.), норичник тонкий (*Scrophularia exilis* Popl) (Mitrofanova et al., 2018a; b), 40 промышленных сортов хризантемы (Malyarovskaya et al., 2018). Таким образом регламенты микроклонально-



**Рис. 7. Регенеранты из зародышей тюльпанов *in vitro* (A), микролуковицы тюльпанов, полученные из одного зародыша *in vitro* (B), регенеранты герберы из неоплодотворённых семязпочек *in vitro* (C)**  
(фото любезно предоставлены Т.М. Коломиец).

**Fig. 7. *In vitro* regenerants from tulip embryos (A), tulip microbulbs obtained from a single embryo *in vitro* (B), gerbera regenerants from unfertilized ovules *in vitro* (C)**  
(photos courtesy of T.M. Kolomiets).

го размножения, эмбриогенеза, соматической гибридизации позволяют значительно ускорять селекционный процесс и эффективно сохранять перспективный материал для будущих исследований.

Разработка методов соматической гибридизации позволила преодолеть ограничения несовместимости. С помощью данного метода получены соматические межродовые гибриды хризантемы *Dendranthema × grandiflorum* (Ramat.) Kitamura и полыни *Artemisia sieversiana* J.F. Ehrh. ex. Willd. с высокой устойчивостью к ржавчине *Puccinia horiana* Henn. (Furuta et al., 2004; Botelho et al., 2015). Таким образом, была продемонстрирована возможность переноса хозяйственно-ценных признаков между несовместимыми видами или родами. В настоящее время данные методы применяются в качестве дополнительных инструментов современного селекционного процесса.

### Трансформирование генома декоративных культур

Значительная роль биотехнологических методов относится к сфере генетической трансформации растений. Применение традиционных методов получения новых сортов растений ограничено потенциалом внутривидовой изменчивости, тогда как генетическая трансформация позволяет преодолеть это ограничение (Tanaka et al., 1998; 2009). В настоящее время наиболее успешным типом трансформации растений является агробактериальная (Slater et al., 2008). С момента начала работ по трансформации декоративных растений за рубежом успешно трансформировано порядка пятидесяти декоративных растений (Brand, 2006; Shibata, 2008; Chandler, Sanchez, 2012).

Достижения в области биотехнологии с помощью

объединения различных механизмов защиты, среди которых естественные гены устойчивости и гены устойчивости фитопатогенов, позволили создавать высокоадаптивные сорта лилии длинноцветковой и птицемлечника тирсовидного с комплексной устойчивостью к вирусным инфекциям (*Lilium longiflorum* Thunb., *Ornithogalum thyrsoides* Jacq., *Pelargonium × hortorum*, *Nicotiana benthamiana*) (Hsu, 2006). Путем агробактериальной трансформации хризантемы *Dendranthema grandiflorum* Ramat. удалось повысить ее резистентность к серой гнили на фоне повышенного синтеза кофеина и салициловой кислоты (Kim et al., 2011). Аналогичные работы ведутся по увеличению устойчивости роз, хризантем, петунии, лилии, гвоздики, гладиолусов и других культур к различным фитопатогенам (Xu et al., 2010; Мекарогу et al., 2021). Помимо модификации декоративных растений и отбора их на устойчивость к биотическим факторам среды проводятся исследования и по увеличению устойчивости растений к абиотическим факторам среды. В качестве примера можно привести результаты исследований, направленных на повышение морозоустойчивости петунии путем привнесения в ее геном гена *CBF3* от *Arabidopsis thaliana* L. (Warner, 2010).

Следующим направлением в селекции декоративных растений является изменение габитуса растений в сторону компактности. Для получения компактных форм *Begonia semperflorens* Link et Otto, *Begonia × hiemalis* Fotsch., *B. × tuberhybrida* была осуществлена инокуляция листовых эксплантов штаммом LBA4404 *Agrobacterium tumefaciens* с бинарным вектором pBI121, содержащим гены *rol A, B, C*. В результате с помощью метода Саузерн-блоттинга была обнаружена вставка одной копии вектора в геном бегонии, которая привела к изменению фенотипа трансформированных растений до полукарликовых и суперкарликовых (Kiyokawa et al.,

1996). Таким же образом получены трансформанты королевской пеларгонии *P. × domesticum* 'Dubonnet', проявляющие карликовый фенотип. Трансформация осуществлялась штаммами ВА4404 и ЕНА105 *A. rhizogenes* с бинарным вектором pLN70, содержащим ген *rolC*, который способен регулировать метаболизм эндогенных гормонов, отвечающих за рост и развитие растений (Boase et al., 2006).

Однако основная масса работ по трансформации декоративных культур связана с созданием сортов с окраской, отсутствующей у исходных растений, которую не удалось бы получить с помощью традиционных методов селекции. Изменение окраски цветков стало возможным посредством контроля уровня экспрессии генов, отвечающих за пути биосинтеза антоцианов. Первым трансформированным декоративным растением стала петуния. Кирпично-красная окраска цветков петунии была получена путем внедрения гена *Al Zea mays* L., кодирующего дигидрофлавонол-4-редуктазу (Meyer et al., 1987). Позднее, с помощью агробактериальной трансформации, была получена оранжевая окраска цветков у *Lilium × formolongi* (Azadi et al., 2010).

В последующие годы были созданы оригинальные сорта с синими и фиолетовыми цветами у таких декоративных растений, как гвоздика, роза, хризантема и других. (Tanaka et al., 2009). Первым коммерчески успешным проектом получения цветков, окрашенных в синий цвет, стали роза *Rosa × hybrida* и гвоздика *Dianthus caryophyllus* L. Это стало возможным, благодаря изменению уровня синтеза антоцианов дельфинидинов, которые отсутствуют в тканях цветков у природных видов, посредством введения гена флавоноид-3',5'-гидроксилазы (*F3'5'H*) и гена дигидрофлаванол-4-редуктазы *DFR*, ответственных за биосинтез дельфинидина (Katsumoto et al., 2007; Chandler, Sanchez, 2012).

С помощью подавления экспрессии гена флавоноид-3'-гидроксилазы (*F3'H*) хризантемы *Chrysanthemum morifolium* Ramat., ответственного за розовую и красную окраски, а также привнесения в геном хризантемы гена *F3'5'H* анютиных глазок *Viola tricolor* L. были получены восемь сортов хризантемы с голубоватым оттенком лепестков (Brugliera et al., 2013). В другом исследовании было произведено изменение окраски цветков хризантемы и получен ряд растений с цветками от красно-пурпурного до пурпурно-фиолетового цвета, благодаря сверхэкспрессии гена *F3'5'H* колокольчика *Campanula medium* L. (Noda et al., 2013).

Новейшим методом генетического редактирования на сегодняшний момент принято считать метод редактирования геномов организмов с помощью системы CRISPR/Cas9 (см., например, Sannikova, 2020; Strygina, Khlestkina, 2020), которая является более простой в использовании, чем методы цинковопальцевых нуклеаз (ZFN) и TALE-ассоциированных нуклеаз (TALEN) (см., например, Kuzmina, 2020). Благодаря способности нуклеаз вызывать двухцепочечные разрывы ДНК,

возможности внесения изменений в несколько участков генома одновременно, а также программируемости нуклеаз. Применение данного метода позволило добиться успехов в генной терапии, хромосомной инженерии, геномном скрининге и создании трансгенных животных (Smirnov et al., 2016). Данная технология нашла применение и в работе с растениями. С помощью метода CRISPR/Cas9 редактирования осуществлен направленный мутагенез у арабидопсиса, пшеницы, кукурузы, ячменя, риса, капусты и других значимых сельскохозяйственных культур. Использование системы CRISPR/Cas9 позволило решить задачи создания новых элитных высокопродуктивных сортов растений с повышенным адаптивным потенциалом и устойчивостью к различным фитопатогенам (Khlestkina, Shumny, 2016). Данный метод направленного мутагенеза не обошел стороной и декоративные растения. У петунии гибридной с помощью РНК-управляемой эндонуклеазы (RGEN) рибонуклеопротеинов (RNP) произведено редактирование гена нитратредуктазы *PhNR*, отвечающей за ассимиляцию азота, что вызвало сайт-специфические мутации (Subburaj et al., 2016).

В целом, изменение окраски цветков и других хозяйственно-ценных признаков декоративных растений имеет благоприятные перспективы для дальнейшего расширения сортимента культур. Преодоление ограничений потенциала внутривидовой изменчивости вида стало возможным благодаря разработке современных методов селекции, в том числе и геномного редактирования.

## Заключение

Таким образом, внедрение современных биотехнологических инструментов, в том числе и методов генетического редактирования, позволяет решать проблему создания нетрансгенных модифицированных растений. Развитие исследований в области биотехнологии и генетики является одним из ключевых аспектов повышения научно-технического уровня развития селекции в России. Сочетание современных методов селекции со значительным опытом использования результатов научных исследований в сельском хозяйстве позволит получать высококонкурентные промышленные сорта растений. Подобная интеграция передовых методов биотехнологии в селекцию декоративных культур будет способствовать качественному замещению импорта цветочно-декоративных культур на российском рынке.

## References / Литература

- Arutyunova E.S., Mokhno V.S. Methodical recommendations for growing freesia plants based on the displacement of ovules *in vitro* (Metodicheskie rekomendatsii po vyrashchivaniyu rasteniy frezii na osnove izolirovannykh semyapochek *in vitro*). Sochi; 2009. [in Russian] (Арутюнова Е.С., Мохно В.С. Методические рекомендации по выращиванию растений фрезии на основе изолированных семяпочек *in vitro*. Сочи; 2009).

- Azadi P., Chin D.P., Kuroda K., Khan R.S., Mii M. Macroelements in inoculation and co-cultivation medium strongly affect the efficiency of Agrobacterium-mediated transformation in *Lilium*. *Plant Cell Tissue, and Organ Culture*. 2010;101:201-209. DOI: 10.1007/s11240-010-9677-9
- Baranova E.G. Selection of decorative forms of tobacco and petunias. In: *General question of world science: Collection of scientific papers on materials V International Scientific Conference; 2018 July 31*; SIC "LJournal"; 2018. p.35-39. [in Russian] (Баранова Е.Г. Селекция декоративных форм табака и петунии. В кн.: *Общие вопросы мировой науки: сборник научных трудов по материалам V Международной научной конференции; 31 июля 2018*; НИЦ "LJournal"; 2018. С.35-39). DOI: 10.18411/gq-31-03-2018-09
- Boase M., Davies K. Modification of flower colour and plant form in selected ornamentals by molecular breeding. In: J.A. Teixeira da Silva (ed.). *Floriculture, ornamental and plant biotechnology: Advances and Topical Issues. Vol. 1*. 1st ed. Global Science Books, Ltd; 2006. p.504-511. Available from: <http://www.globalsciencebooks.info/Books/images/FOPBVOLUME1Outline.pdf> [accessed Nov. 29, 2021].
- Bolgov V.I. The results of the breeding of the hybrid hippeastrum (Itogi selektsii gippeastruma gibridnogo) *Subtropical and ornamental horticulture*. 2004;39(1):133-139. [in Russian] (Болгов В.И. Итоги селекции гиппеаструма гибридного. *Субтропическое и декоративное садоводство*. 2004;39(1):133-139).
- Botelho F.B.S., Rodrigues C.S., Bruzi A.T. Ornamental Plant Breeding. *Ornamental Horticulture*. 2015;21(1):9-16. DOI: 10.14295/rbho.v21i1.770
- Brand H. Ornamental plant transformation. *Journal of crop improvement*. 2006;17:27-50. DOI: 10.1300/J411v17n01\_02
- Bratukhina E.V., Mokhno V.S. The use of wild tulips and their hybrids in breeding (Ispolzovanie v selektsii tyulpanov dikikh vidov i ih gibridov). *Vestnik of the Russian agricultural science*. 2015;6:54-55. [in Russian] (Братухина Е.В., Мохно В.С. Использование в селекции тюльпанов диких видов и их гибридов. *Вестник российской сельскохозяйственной науки*. 2015;6:54-55).
- Bratukhina E.V., Lepilov S.M. Freesia: crop history, approaches to the creation of modern varieties (Frezia: istoriya kultyury, podkhody k sozdaniyu sovremennykh sortov). In: *New and Nontraditional Plants and Prospects of Their Utilization: Proceedings of IV International Symposium. Vol. 2; 2001 June 20-24*; Moscow; 2001. p.47-49 [in Russian] (Братухина Е.В., Лепилов С.М. Фрезия: история культуры, подходы к созданию современных сортов. В кн.: *Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования: труды IV Международного симпозиума. Т. 2; Москва, 20-24 июня 2001 г.*; Москва; 2001. С.47-49).
- Brugliera F., Tao G.Q., Tams U., Kalc G., Mouradova E., Price K., Stevenson K., Nakamura N., Stacey I., Katsumoto Y. Violet/Blue chrysanthemums-metabolic engineering of the anthocyanin biosynthetic pathway results in novel petal colors. *Plant and Cell Physiology*. 2013;54(10):1696-1710. DOI: 10.1093/pcp/pct110
- Chandler S.F., Sanchez C. Genetic modification; the development of transgenic ornamental plant varieties. *Plant Biotechnology Journal*. 2012;10:891-903. DOI: 10.1111/j.1467-7652.2012.00693.x
- Dolganova Z.V. Species of subgenus *Limniris* of genus *Iris* in breeding on increasing of generative productivity of cultivars. *Problems of Botany of South Siberia and Mongolia: Proceedings of the 15th International Scientific and Practical Conference; 2016 May 23-26; Barnaul*. 2016;15:173-183. [in Russian] (Долганова З.В. Виды подрода *Limniris* рода *Iris* в селекции на повышение генеративной продуктивности сортов. *Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии: сборник научных статей по материалам XV международной научно-практической конференции; Барнаул, 23-26 мая 2016 г.*; Барнаул: Изд-во Алтайского государственного университета; 2016. С.173-183).
- Evsyukova T.V., Kozina V.V., Slepchenko N.A. Ornamental herbaceous species from the natural flora of the North-West Caucasus (Dekorativnye travyanistyye vidy prirodnoy flory Severo-Zapadnogo Kavkaza). Sochi; 2009. [in Russian] (Евсюкова Т.В., Козина В.В., Слепченко Н.А. Декоративные травянистые виды природной флоры Северо-Западного Кавказа. Сочи; 2009).
- Flower production market in Russia 2015-2021 (Rynok proizvodstva tsvetov v Rossii 2015-2021). GK Interagro: [site]. [in Russian] (Рынок производства цветов в России 2015-2021. ООО «ГК Интерагро»: [сайт]). URL : <https://interagro.info/news/smi-onas/rynok-proizvodstva-tsvetov-2015-2021/> [дата обращения: 30.11.2021].
- Flowers (market of Russia and the World). TAdviser: [site]. [in Russian] Цветы (рынок России и мира). TAdviser: [сайт]. URL : [https://www.tadviser.ru/index.php/Статья:Цветы\\_\(рынок\\_России\\_и\\_мира\)](https://www.tadviser.ru/index.php/Статья:Цветы_(рынок_России_и_мира)) [дата обращения: 30.11.2021].
- Furuta H., Shinozuma H., Nomura Y., Maeda M., Makara K. Production of intergeneric somatic hybrids of chrysanthemum (*Dendranthema* × *grandiflorum* (Ramat.) Kitamura) and wormwood (*Artemisia sieversiana* J.F. Ehrh. ex. Willd) with rust (*Puccinia horiana* Henning) resistance by electrofusion of protoplasts. *Plant science*. 2004;166:695-702. DOI: 10.1016/j.plantsci.2003.11.007
- Gutieva N.M. Feature collection of the genus *Pelargonium*. *Pomiculture and small fruits culture in Russia*. 2018;54:31-34. [in Russian] (Гутиева Н.М. Признаковая коллекция рода *Pelargonium*. *Плодоводство и ягодоводство России*. 2018;54:31-34). DOI: 10.31676/2073-4948-2018-54-31-34
- Gutiyeva N.M. New cultivars of *Pelargonium crispum* bred at the Russian Research Institute of Floriculture and Subtropical Crops. *Subtropical and ornamental horticulture*. 2019;69:97-105. [in Russian] (Гутиева Н.М. Новые сорта *Pelargonium crispum* селекции ВНИИЦИСК. *Субтропическое и декоративное садоводство*. 2019;69:97-105). DOI: 10.31360/2225-3068-2019-69-97-105
- Gutiyeva N.M. Specifics of thE inheritance of decorative features in *Pelargonium grandiflorum*. *Subtropical and ornamental horticulture*. 2020;75:49-55. [in Russian] (Гутиева Н.М. Особенности наследования декоративных признаков *Pelargonium grandiflorum*. *Субтропическое и декоративное садоводство*. 2020;75:49-55). DOI: 10.31360/2225-3068-2020-75-49-55
- Hsu H.-T. Engineering resistance and disease management in ornamental crops. In: *Ecological and Environmental Biosafety of Transgenic Plants: Proceedings of International Symposium; 2006 December 7-8*; Taiwan, Taichung City: Taiwan Agricultural Research Institute Council of Agriculture; 2006. p.39-60.
- Isachkin A.V., Soloviev A.A., Khanbabaeva O.E., Bogdanova V.D., Zarenkova E.G. Studying the influence of colchicine aqueous solution treatment on characteristics modification of two horticultural groups of snapdragon (*Antirrhinum majus* L.). *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*. 2014;4:5-17 [in Russian] (Исачкин А.В., Соловьев А.А., Ханбабаева О.Е., Богданова В.Д., Заренкова Е.Г. Изучение влияния обработок водным раствором колхицина на изменение признаков у двух садовых групп львиного зева (*Antirrhinum majus* L.). *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. 2014;4:5-17).
- Kasperavichus A.A., Slepchenko N.A. Analyzing the world latest bulbous plants according to Royal Bulb Growers' Association. *Subtropical and ornamental horticulture*. 2018;64:9-18. [in Russian] (Касперавичус А.А., Слепченко Н.А. Анализ мировых новинок луковичных культур по данным королевской генеральной ассоциации производителей луковичных растений. *Субтропическое и декоративное садоводство*. 2018;64:9-18). DOI: 10.31360/2225-3068-2018-64-9-18
- Katsumoto Y., Fukuchi-Mizutani M., Fukui Y., Brugliera F., Holton T.A., Karan M., Nakamura N., Yonekura-Sakakibara K., Togami J., Pigeaire A., Tao G.-Q., Nehra N.S., Lu C.-Y., Dyson B.K., Tsuda S., Ashikari T., Kusumi T., Mason J.G., Tanaka Y. Engineering of the rose flavonoid biosynthetic pathway successfully generated blue-hued flowers accumulating delphinidin. *Plant and Cell Physiology*. 2007;48(11):1589-1600. DOI: 10.1093/pcp/pcm131
- Khlestkina E.K., Shumny V.K. Prospects for application of breakthrough technologies in breeding: The CRISPR/Cas9 system for plant genome editing. *Russian Journal of Genetics*. 2016;52(7):774-787. [in Russian] (Хлесткина Е.К., Шумный В.К. Перспективы использования прорывных технологий в

- селекции: система CRISPR/Cas9 для редактирования генома растений. *Генетика*. 2016;52(7):774-787). DOI: 10.7868/S0016675816070055
- Kim Y.-S., Lim S., Yoda H., Choi C.-S., Choi Y.-E., Sano H. Simultaneous activation of salicylate production and fungal resistance in transgenic *Chrysanthemum* producing caffeine. *Plant Signaling and Behavior*. 2011;6:409-412. DOI: 10.4161/psb.6.3.14353
- Kireeva M.F. Lilies (Lilii). Moscow; 1984. [in Russian] (Киреева М.Ф. Лилии. Москва; 1984).
- Kiyokawa S., Kikuchi Y., Kamada H., Harada H. Genetic transformation of *Begonia tuberhybrida* by *Ri rol* genes. *Plant Cell Reports*. 1996;15(8):606-609. DOI: 10.1007/BF00232462
- Klimenko Z.K., Zykova V.K., Aleksandrova L.M., Ulanovskaya I.V., Zubkova N.V., Smykova N.V., Plugatar S.A., Andryushenkova Z.P., Kravchenko I.N. The breeding work with flowerornamental planta in the Nikita Botanical Gardens. *Works of the State Nikitsky Botanical Garden*. 2017;145:26-33. [in Russian] (Клименко З.К., Зыкова В.К., Александрова Л.М., Улановская И.В., Зубкова Н.В., Смыкова Н.В., Плуатарь С.А., Андриюшенкова З.П., Кравченко И.Н. Селекция цветочно-декоративных растений в Никитском ботаническом саду. *Сборник научных трудов ГНБС*. 2017;145:26-33). URL: [https://www.elibrary.ru/download/elibrary\\_30162313\\_93433968.pdf](https://www.elibrary.ru/download/elibrary_30162313_93433968.pdf) [дата обращения: 30.11.2021].
- Kolomiets T.M., Mokhno V.S. Guidelines for growing hybrid tulip plants as *in vitro* embryo culture (Metodicheskie rekomendacii po vyrashchivaniyu gibridnyh rastenij tyulpanov v kulture zarodyshej *in vitro*). Sochi: All-Russian Research Institute of Floriculture and Subtropical Crops; 2000. [in Russian] (Коломиец Т.М., Мохно В.С. Методические рекомендации по выращиванию гибридных растений тюльпанов в культуре зародышей *in vitro*. Сочи: Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур; 2000).
- Kolomiets T.M., Ovchinnikova V.N., Gulevich A.A., Samarina L.S., Kurenina L.V. Biotechnological methods of increasing the regenerative capacity of gerbera *in vitro* to create transgenic plants (Biotehnologicheskie priemy povysheniya regeneratsionnoy sposobnosti gerbery *in vitro* dlya sozdaniya transgennykh rasteniy). *Dekorativnoe sadovodstvo Rossii = Ornamental gardening in Russia*. 2009;42(1):192-197. [in Russian] (Коломиец Т.М., Овчинникова В.Н., Гулевич А.А., Самарина Л.С., Куренина Л.В. Биотехнологические приемы повышения регенерационной способности герберы *in vitro* для создания трансгенных растений. *Декоративное садоводство России*. 2009;42(1):192-197).
- Kolomijets T.M., Sokolov R.N., Malyarovskaya V.I. *In vitro* micropropagation of *Eryngium maritimum* L. *Subtropical and ornamental horticulture*. 2014;50:196-204. [in Russian] (Коломиец Т.М., Соколов Р.Н., Мальяровская В.И. Микроразмножение синеголовника приморского (*Eryngium maritimum* L.) в культуре *in vitro*. *Субтропическое и декоративное садоводство*. 2014;50:196-204).
- Kozina S.V. Promising hybrid forms of *Anemone coronaria*. *Polythematic Online Scientific Journal of Kuban State Agrarian University*. 2020;155:138-146. [in Russian] (Козина С.В. Перспективные гибридные формы анемоны корончатой. *Политематический сетевой электронный научный журнал кубанского государственного аграрного университета*. 2020;155:138-146). DOI: 10.21515/1990-4665-155-010
- Kuzmina Y.V. Methods of genome editing for increasing the shelf life of tomato fruit. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2020;3(1):31-39 [in Russian] (Кузьмина Ю.В. Методы редактирования генома для увеличения лёжкости плодов томата. *Биотехнология и селекция растений*. 2020;3(1):31-39). DOI: 10.30901/2658-6266-2020-1-06
- Lepilov S.M. Guidelines for the use of indirect diagnostic traits in assessing the ploidy level of hybrid hemerocallis (Metodicheskie ukazaniya po ispolzovaniyu kosvennykh diagnosticheskikh priznakov v otsenke urovnya ploidnosti gernerokallisa gibridnogo) *Subtropical and ornamental horticulture*. 2012;47:211-227. [in Russian] (Лепилов С.М. Методические указания по использованию косвенных диагностических признаков в оценке уровня ploidности гемерокаллиса гибридного) *Субтропическое и декоративное садоводство*. 2012;47:211-227).
- Leunov V.I., Khanbabaeva O.E. Features of breeding work with annual flower crops on the example of *Penstemon Hartweigi* (Osobennosti selektsionnoy raboty s odnoletnimi tsvetochnymi kulturami na primere *Penstemon Hartweigi*). *Tendencii razvitiya nauki i obrazovaniya = Trends in the development of science and education*. 2021;73(1):114-117. [in Russian] (Леунов В.И., Ханбабаева О.Е. Особенности селекционной работы с однолетними цветочными культурами на примере Пенстемона Хартвейга. *Тенденции развития науки и образования*. 2021;73(1):114-117). DOI: 10.18411/ij-05-2021-30
- Malyarovskaya V.I., Samarina L.S., Koninskaya N.G. Creation and maintenance of chrysanthemums collection *in vitro*. *Pomiculture and small fruits culture in Russia*. 2018;54:97-105. [in Russian] (Мальяровская В.И., Самарина Л.С., Конинская Н.Г. Создание и поддержание коллекции хризантемы в культуре *in vitro*. *Плодоводство и ягодоводство России*. 2018;54:97-105). DOI: 10.31676/2073-4948-2018-54-97-105
- Medvedeva N.I., Buntsevich L.L., Mokhno V.S. The use of *in vitro* methods in breeding of fruit, flower and ornamental crops (Ispolzovanie metodov *in vitro* v selektsii plodovykh i tsvetochno-dekorativnykh kultur). *Fruit growing and viticulture of South Russia*. 2012;15:1-11. [in Russian] (Медведева Н.И., Бунцевич Л.Л., Мохно В.С. Использование методов *in vitro* в селекции плодовых и цветочно-декоративных культур. *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 2012;15:1-11).
- Mekapogu M., Jung J.-A., Kwon O.-K., Ahn M.-S., Song H.-Y., Jang S. Recent progress in enhancing fungal disease resistance in ornamental plants. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(15):7956. DOI: 10.3390/ijms22157956
- Meyer P., Heidmann I., Forkmann G., Saedler H. A new petunia flower color generated by transformation of a mutant with a maize gene. *Nature*. 1987;330:677-678.
- Mironova L.N., Reut A.A. New disease resistant varieties of peony bred at the Botanical Garden-Institute of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences (Novye sorta piona, ustoychivye k bolezniam, selektsii Botanicheskogo sada-institutata UNC RAN.). *Pomiculture and small fruits culture in Russia*. 2013;36(2):35-40. [in Russian] (Миронова Л.Н., Реут А.А. Новые сорта пиона, устойчивые к болезням, селекции Ботанического сада-института УНЦ РАН. *Плодоводство и ягодоводство России*. 2013;36(2):35-40).
- Mironova L.N., Reut A.A. New varieties of garden hippeastrum of Bashkir breeding (Novye sorta gippeastruma sadovogo bashkirskoj selektsii). *Agrarian Russia*. 2014;5:2-5. [in Russian] (Миронова Л.Н., Реут А.А. Новые сорта гиппеаструма садового башкирской селекции. *Аграрная Россия*. 2014;5:2-5). DOI: 10.30906/1999-5636-2014-5-2-5
- Mishukova I.V., Khrynova T.R. The results of Rhododendrons selection (*Rhododendron* L., Ericaceae) in the UNN Botanical Garden – Research Institute. *Vestnik of Lobachevsky University of Nizhni Novgorod*. 2014;3(3):86-91. [in Russian] (Мишукова И.В., Хрынова Т.Р. Результаты селекции рододендронов (*Rhododendron* L., Ericaceae) в НИИ Ботанический сад Нижегородского государственного университета. *Вестник Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского*. 2014;3(3):86-91).
- Mitrofanova I.V. Somatic embryogenesis and organogenesis as a basis of biotechnological systems for obtaining and preserving ornamental and fruit crops (Somaticheskij embriogenez i organogenez kak osnova biotehnologicheskikh sistem polucheniya i sohraneniya dekorativnykh i plodovykh kultur). *Works of the State Nikitsky Botanical Garden*. 2009;131:9-22. [in Russian] (Митрофанова И.В. Соматический эмбриогенез и органогенез как основа биотехнологических систем получения и сохранения декоративных и плодовых культур. *Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада*. 2009;131:9-22).
- Mitrofanova I.V., Mitrofanova O.V., Nikiforov A.R., Lesnikova-Sedoshenko N.P., Chelombit S.V. Biotechnological approaches to the reproduction of *Scrophularia exilis* Popl., a rare endemic in the flora of the mountainous Crimea

- (Biotekhnologicheskie podkhody v razmnozhenii redkogo endemika flory gornogo Kryma *Scrophularia exilis* Popl.). *Bulletin of the State Nikitsky Botanical Garden*. 2018a;127:59-67. [in Russian] (Митрофанова И.В., Митрофанова О.В., Никифоров А.Р., Лесникова-Седошенко Н.П., Челомбит С.В. Биотехнологические подходы в размножении редкого эндемика флоры горного Крыма *Scrophularia exilis* Popl. *Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада*. 2018a;127:59-67).
- Mitrofanova I.V., Paliy A.E., Grebennikova O.A., Brailko V.A., Lesnikova-Sedoshenko N.P., Rabotyagov V.D., Mitrofanova O.V. Adaptiveness of promising lavender and lavandin cultivars under *in vitro* culture and *ex situ*. *Agricultural biology*. 2018b;53(3):539-546. [in Russian] (Митрофанова И.В., Палий А.Е., Гребенникова О.А., Браилко В.А., Лесникова-Седошенко Н.П., Работягов В.Д., Митрофанова О.В. Адаптационная способность перспективных сортов лаванды и лавандина при культивировании *in vitro* и *ex situ*. *Сельскохозяйственная биология*. 2018b;53(3):539-546). DOI: 10.15389/agrobiol.2018.3.539rus
- Mokhno V.S., Bratukhina E.V. On the breeding of bulbous flower crops (K voprosu o selektsii lukovichnykh tsvetochnykh kultur). *Dekorativnoe sadovodstvo Rossii = Ornamental gardening in Russia*. 2010;43(2):17-24. [in Russian] (Мохно В.С., Братухина Е.В. К вопросу о селекции луковичных цветочных культур. *Декоративное садоводство России*. 2010;43(2):17-24).
- Mokhno V.S., Bratukhina E.V., Yakushina L.G. Chrysanthemum breeding in the humid subtropics of the Krasnodar Territory (Selektsiya hrizantemy v usloviyakh vlazhnykh subtropikov Krasnodarskogo kraya). *Subtropical and ornamental horticulture*. 2017;63:78-85. [in Russian] (Мохно В.С., Братухина Е.В., Якушина Л.Г. Селекция хризантемы в условиях влажных субтропиков Краснодарского края. *Субтропическое и декоративное садоводство*. 2017;63:78-85).
- Mokhno V.S., Kolomiets T.M., Bratukhina E.V. Creation of modern tulip varieties using *in vitro* culture (Sozdanie sovremennykh sortov tulpanov s ispolzovaniem kultury *in vitro*). *Achievements of science and technology of AIC*. 2004;7:17-20. [in Russian] (Мохно В.С., Коломиец Т.М., Братухина Е.В. Создание современных сортов тюльпанов с использованием культуры *in vitro*. *Достижения науки и техники АПК*. 2004;7:17-20).
- Mokhno V.S., Ryndin A.V., Bratukhina E.V., Zaverukha D.V. Gerbera breeding in Russia (Selektsiya gerbery v Rossii). *Subtropical and ornamental horticulture*. 2008;41:223-232. [in Russian] (Мохно В.С., Рындин А.В., Братухина Е.В., Заверуха Д.В. Селекция герберы в России. *Субтропическое и декоративное садоводство*. 2008;41:223-232).
- Noda N., Aida R., Kishimoto S., Ishiguro K., Fukuchi-Mizutani M., Tanaka Y., Ohmiya A. Genetic engineering of novel bluer-colored chrysanthemums produced by accumulation of delphinidin-based anthocyanins. *Plant and Cell Physiology*. 2013;54(10):1684-1695. DOI: 10.1093/pcp/ptcl11
- Pashchenko O.I. Perspectives of selection work with freesia culture. *Vestnik of the Russian agricultural science*. 2020;1:49-52. [in Russian] (Пашченко О.И. Перспективы селекционной работы с культурой фрезия. *Вестник российской сельскохозяйственной науки*. 2020;1:49-52). DOI: 10.30850/vrsn/2020/1/49-52
- Plugatar Yu.V., Koba V.P., Klimenko Z.K., Korzhenevsky V.V., Smykov A.V., Isikov V.P., Komar-Tyomnaya L.D., Pashchetsky A.V., Golovnev I.I., Sarkina I.S., Alexandrova L.M., Zyкова V.K., Maksimov A.P., Pilkevich R.A., Ruguzova A.I., Gubanov T.B., Korzhenevskaya Yu.V., Tsyupka S.Yu., Plugatar S.A., Ulanovskaya I.V., Smykova N.V., Zubkova N.V., Gerasimchuk V.N., Fedorova O.S., Goncharenko V.A., Golovneva E.E., Andryushenkova Z.P., Spotar E.N., Kvitnitskaya A.A., Kharchenko A.L., Paliy I.N., Kravchenko I.N., Knyazeva O.I., Rogatenyuk L.A., Palkeyev A.M. Introduction and breeding of ornamental plants in the Nikitsky Botanical Gardens (current status, development prospects and application in landscape architecture) (Introduktsiya i selektsiya dekorativnykh rasteniy v Nikitskom Botanicheskom Sadu (sovremennoye sostoyanie, perspektivy razvitiye i primeneniye v landshaftnoy arkhitekture)). Simferopol; 2015. [in Russian] (Плугатар Ю.В., Коба В.П., Клименко З.К., Корженевский В.В., Смыков А.В., Исков В.П., Комар-Тёмная Л.Д., Пашчещкий А.В., Головнёв И.И., Саркина И.С., Александрова Л.М., Зыкова В.К., Максимов А.П., Пилькевич Р.А., Ругузова А.И., Губанова Т.Б., Корженевская Ю.В., Цюпка С.Ю., Плугатар С.А., Улановская И.В., Смыкова Н.В., Зубкова Н.В., Герасимчук В.Н., Федорова О.С., Гончаренко В.А., Головнёва Е.Е., Андриушенкова З.П., Спотар Е.Н., Квитницкая А.А., Харченко А.Л., Палькеев А.М. Интродукция и селекция декоративных растений в Никитском ботаническом саду (современное состояние, перспективы развития и применение в ландшафтной архитектуре). Симферополь: «Издательство Типография «Ариал»; 2015).
- Pugacheva G.M. The main directions in the breeding of lilies (Osnovnye napravleniya selektsii liliy). *Subtropical and ornamental horticulture*. 2012;46:87-94. [in Russian] (Пугачева Г.М. Основные направления селекции лилий. *Субтропическое и декоративное садоводство*. 2012;46:87-94).
- Pugacheva G.M. The main achievements and development prospects of the floriculture laboratory of the I.V. Michurin All-Russian Research Institute of Horticulture (Osnovnye dostizheniya i perspektivy razvitiya laboratorii tsvetovodstva VNIS im. I.V. Michurina). *Subtropical and ornamental horticulture*. 2014;50:36-42. [in Russian] (Пугачева Г.М. Основные достижения и перспективы развития лаборатории цветоводства ВНИИС им. И.В. Мичурин. *Субтропическое и декоративное садоводство*. 2014;50:36-42).
- Ryndin A.V., Kravtsov I.A., Vorontsov V.V., Maluykova L.S. The main prerequisites for the transformation of an experiment station into the Research Institute of Mountain Horticulture and Floriculture: some results, prospects and problems of its development (Osnovnye predposylki preobrazovaniya opytnoy stantsii v nii gornogo sadovodstva i tsvetovodstva – nekotorye itogi, perspektivy i problemy ego razvitiya). *Subtropical and ornamental horticulture*. 2007;40:3-31. [in Russian] (Рындин А.В., Кравцов И.А., Воронцов В.В., Малюкова Л.С. Основные предпосылки преобразования опытной станции в НИИ горного садоводства и цветоводства – некоторые итоги, перспективы и проблемы его развития. *Субтропическое и декоративное садоводство*. 2007;40:3-31).
- Ryndin A.V., Kulyan R.V., Slepchenko N.A. Subtropical and flower crops breeding at the Subtropical Scientific Centre. *Vavilov journal of genetics and breeding*. 2021;25(4):420-432. [in Russian] (Рындин А.В., Кулян Р.В., Слепченко Н.А. Селекция субтропических и цветочных культур в ФИЦ «Субтропический научный центр РАН». *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;25(4):420-432). DOI: 10.18699/VJ21.047
- Ryndin A.V., Mokhno V.S. Creation of new gerbera genotypes (Sozdanie novykh genotipov gerbery). *Vestnik sel'skhozvaystvennoy nauki* 2012;5:24-26. [in Russian] (Рындин А.В., Мохно В.С. Создание новых генотипов герберы. *Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук*. 2012;5:24-26).
- Sannikova V.Yu. Genetic engineering as a way to obtain ornamental plants with a changed flower color. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2020;3(1):40-45. [in Russian] (Санникова В.Ю. Генная инженерия как способ получения декоративных растений с изменённой окраской цветков. *Биотехнология и селекция растений*. 2020;3(1):40-45). DOI: 10.30901/2658-6266-2020-1-01
- Shibata M. Importance of genetic transformation in ornamental plant breeding. *Plant Biotechnology*. 2008;25:3-8. DOI: 10.5511/plantbiotechnology.25.3
- Shigapov Z.Kh. Botanical Garden-Institute of the Ufa Research Center of the RAS: history of its creation and establishment, the major achievements in the study and conservation of biological diversity (Botanicheskiy sad-institut Ufmskogo nauchnogo tsentra RAN: istoriya sozdaniya i stanovleniya, vazhneyshie dostizheniya v izuchenii i sokhraneni biologicheskogo raznoobraziya). *Proceedings of the RAS Ufa Scientific Centre*. 2011;1(1):25-35. [in Russian] (Шигапов З.Х. Ботанический

- сад-институт Уфимского научного центра РАН: история создания и становления, важнейшие достижения в изучении и сохранении биологического разнообразия. *Известия Уфимского научного центра Российской академии наук*. 2011;1(1):25-35).
- Slater A., Scott N., Fowler M. *Plant Biotechnology: the genetic manipulation of plants*. 2nd ed. Oxford: Oxford university press; 2008.
- Slepchenko N.A., Paschenko O. I. Composition and condition of perennial herbaceous flower crops collection of FRC SSC of RAS. *Subtropical and ornamental horticulture*. 2021;76:66-80. [in Russian] (Слепченко Н.А., Пащенко О.И. Состав и состояние коллекции многолетних травянистых цветочных культур ФИЦ СЦ РАН. *Субтропическое и декоративное садоводство*. 2021;76:66-80). DOI: 10.31360/2225-3068-2021-76-66-80
- Slepchenko N.A., Shoshina Ye.I. World and domestic latest offers and trends in *Iris sibirica* breeding. *Subtropical and ornamental horticulture*. 2018;66:74-80. [in Russian] (Слепченко Н.А., Шошина Е.И. Мировые и отечественные новинки и тенденции в селекции ириса сибирского. *Субтропическое и декоративное садоводство*. 2018;66:74-80). DOI: 10.31360/2225-3068-2018-66-74-80
- Smirnov A.V., Yunusova A.M., Lukyanchikova V.A., Battulin N.R. CRISPR/Cas9, a universal tool for genomic engineering. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2016;20(4):493-510. [in Russian] (Смирнов А.В., Юнусова А.М., Лукьянчикова В.А., Баттулин Н.Р. Система CRISPR/Cas9 – универсальный инструмент геномной инженерии. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016;20(4):493-510). DOI: 10.18699/VJ16.175
- Strygina K.V., Khlestkina E.K. Wheat, barley and maize genes editing using the CRISPR/Cas system. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2020;3(1):46-56. [In Russian] (Стрыгина К.В., Хлесткина Е.К. Редактирование генов пшеницы, ячменя и кукурузы с использованием системы CRISPR/Cas. *Биотехнология и селекция растений*. 2020;3(1):46-56). DOI: 10.30901/2658-6266-2020-1-02
- Subburaj S., Chung S.J., Lee C., Ryu S.M., Kim D.H., Kim J.S., Bae S., Lee G.J. Site-directed mutagenesis in *Petunia × hybrida* protoplast system using direct delivery of purified recombinant Cas9 ribonucleoproteins. *Plant Cell Reports*. 2016;35(7):1535-1544. DOI: 10.1007/s00299-016-1937-7
- Tanaka Y., Brugliera F., Chandler S. Recent Progress of Flower Colour Modification by Biotechnology. *International Journal of Molecular Sciences*. 2009;10(12):5350-5369. DOI: 10.3390/ijms10125350
- Tanaka Y., Tsuda S., Kusumi T. Metabolic engineering to modify flower color. *Plant and Cell Physiology*. 1998;39(11):1119-1126.
- Tukhvatullina L.A., Mironova L.N. New varieties of *Chrysanthemum ×koreanum* bred in the Botanical Garden-Institute of the Ufa Research Center of the RAS (Novye sorta khrizantemy koreyskoi, vyvedennye v Botanicheskom sadu-institute UNC RAN). *Izvestia Orenburg State Agrarian University*. 2017;2(64):39-42. [in Russian] (Тухватуллина Л.А., Миронова Л.Н. Новые сорта хризантемы корейской, выведенные в Ботаническом саду-институте УНЦ РАН. *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. 2017;2(64):39-42).
- Uspenskaya M.S., Murashev V.V. Collection of *Paenies suffruticosa* in a botanical garden of the Moscow State University, their selection and reproduction.. *Byulleten Botanicheskogo sada-instituta DVO RAN = Bulletin of the Botanical Garden-Institute of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences*. 2014;11:4-9. [in Russian] (Успенская М.С., Мурашев В.В. Коллекция древовидных пионов в ботаническом саду МГУ, их селекция и размножение. *Бюллетень Ботанического сада-института ДВО РАН*. 2014;11:4-9).
- Uspenskaya M.S., Murashev V.V. Prospects for the use of wild species of the genus *Paenonia* L. in breeding. *Problems of Botany of Southern Siberia and Mongolia*. 2019a;18:630-635. [in Russian] (Успенская М.С., Мурашев В.В. Перспективы использования дикорастущих видов рода *Paenonia* L. в селекционной работе. *Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии*. 2019a;18:630-635). DOI: 10.14258/pbssm.2019133
- Uspenskaya M.S., Murashev V.V. The gene pool of wild species of the genus *Paenonia* L. as a basis for the creation of the new generation varieties (Genofond dikorastushchikh vidov roda *Paenonia* L. – osnova sozdaniya sortov novogo pokoleniya). *Novosti nauki v APK = Science news of AIC*. 2019b;1-2(12):101-107. [in Russian] (Успенская М.С., Мурашев В.В. Генофонд дикорастущих видов рода *Paenonia* L. – основа создания сортов нового поколения. *Новости науки в АПК*. 2019b;1-2(12):101-107).
- Uspenskaya M.S., Murashev V.V. The History of Breeding of *Paenonia suffruticosa* Andrews. *Plant Biology and Horticulture: theory, innovation*. 2017;(145):155-161. [in Russian] (Успенская М.С., Мурашев В.В. История селекции пиона древовидного. *Биология растений и садоводство: теория, инновации*. 2017;145:155-161).
- Warner R. Genetic approaches to improve cold tolerance of petunia. Warner R.M. Genetic approaches to improve cold tolerance of petunia. American Floral Endowment: Funding Industry Solutions Through Research and Education. Special Research Report# 306: Plant Breeding and Genetic Engineering. 2010. URL: [https://hortscans.ces.ncsu.edu/uploads/g/e/genetic\\_520270b12fc5f.pdf](https://hortscans.ces.ncsu.edu/uploads/g/e/genetic_520270b12fc5f.pdf) [accessed Nov. 29, 2021].
- Xu G., Chen S., Chen F. Transgenic chrysanthemum plants expressing a harpin<sub>хоо</sub> gene demonstrate induced resistance to *Alternaria* leaf spot and accelerated development. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2010;57(4):548-553. DOI: 10.1134/S1021443710040138

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

**Plant Biotechnology and Breeding**

Advanced search

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

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

[Read more](#)

**CURRENT ISSUE**

Vol 4, No 3 (2021) [View or download the full issue](#) [PDF \(RUSSIAN\)](#)

**FROM THE EDITOR IN CHIEF**

**Introductory Article**

E. K. Khlestkina

[PDF \(RUS\)](#)

4-4 48

[Abstract](#)

**DEVELOPMENT OF MODERN BREEDING METHODS**

**Anthocyanin content in grains of barley and oat accessions from the VIR collection**

K. A. Lukina, O. Y. Shoeva, O. N. Kavaleva, I. G. Laskutov

[PDF \(RUS\)](#)

5-14 127

[Abstract](#)

**Regulation of flavonoid biosynthesis in representatives of the tribe Phaseoleae DC.**

E. A. Krylova, A. S. Mikhailova

[PDF \(RUS\)](#)

15-25 94

[Abstract](#)

**Start submission**

[Author Guidelines](#)

[Editorial Board](#)

[Editorial Council](#)

[Peer Review](#)

[Publishing Ethics](#)

**POPULAR ARTICLES**

Combining ability and response to CMS in reverse diploid maize lines developed at VIR  
Vol 2, No 4 (2019)

Distant hybridization as a method of haploid production in cereals  
Vol 2, No 2 (2019)

Russian dandelion (*Taraxacum kok-saghyz* Rodin): rubber extraction methods and prospects for biotechnological methods application  
Vol 2, No 2 (2019)

<https://biosel.elpub.ru>

«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.

The screenshot displays the website for the journal "Биотехнология и селекция растений". At the top, there is a search bar and a navigation menu with links: ГЛАВНАЯ, О НАС, ТЕКУЩИЙ ВЫПУСК, АРХИВЫ, ОБЪЯВЛЕНИЯ, ПРИНЯТО В ПЕЧАТЬ. Below the navigation, there is a featured article section with a thumbnail image and a brief description of the journal's content. To the right, there is a sidebar with links for "Отправить статью", "Правила для авторов", "Редакционная коллегия", "Редакционный совет", "Рецензирование", and "Этика публикаций". The main content area is divided into sections: "ТЕКУЩИЙ ВЫПУСК" (Current Issue) for Volume 4, Issue 3 (2021), with a "Скачать выпуск PDF" link; "ОТ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА" (From the Editor) featuring an introductory article by E. K. Khlestkina; and "РАЗВИТИЕ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ СЕЛЕКЦИИ" (Development of Modern Selection Methods) with two articles: "Содержание антоцианов в образцах зерновок ячменя и овса..." and "Регуляция биосинтеза флавоноидов у представителей трибы фасолиевые...". A sidebar on the right contains logos for various databases and services like Open Access, Mendeley, and Unpaywall. At the bottom of the sidebar, there is a "ПОПУЛЯРНЫЕ СТАТЬИ" (Popular Articles) section listing specific articles with their titles and issue information.

<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 30.12.2021 Формат бумаги 70 × 100<sup>1/8</sup>  
Бумага офсетная. Печать офсетная  
Печ. л. 7 Тираж 30 экз. Заказ 3012

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

---

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

БИОТЕХНОЛОГИЯ  
И СЕЛЕКЦИЯ  
РАСТЕНИЙ

4(4), 2021