

БИОТЕХНОЛОГИЯ И СЕЛЕКЦИЯ РАСТЕНИЙ

5(3), 2022



Arachis hypogaea L.



A. hypogaea



A. hypogaea



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

2022, 5(3)

ОСНОВАН В 2018 ГОДУ
ПЕРИОДИЧНОСТЬ 4 РАЗА В ГОД

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

e-mail: pbi@vir.nw.ru

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

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

DOI: 10.30901/2658-6266-2022-1
УДК: 573.6:631.527

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

На обложке:

Фото 1. *Arachis hypogaea* L., цветущее растение, к-168, Китай, 2019 Кубанская опытная станция – филиал ВИР
Фото 2. *A. hypogaea*, гинофоры на побегах, к-1987 сорт Отрадокубанский, Россия, 2019, Кубанская опытная станция – филиал ВИР
Фото 3. *A. hypogaea*, разнообразие формы и окраски семян образцов в коллекции ВИР

Материалы к статье В.Д. Бемовой с соавторами «Регенерационная способность арахиса». Фотографии предоставлены В.Д. Бемовой

SCIENTIFIC PEER REVIEWED JOURNAL

PLANT BIOTECHNOLOGY AND BREEDING

2022, 5(3)

FOUNDED IN 2018
PUBLISHED 4 TIMES ANNUALLY

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

e-mail: pbi@vir.nw.ru

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

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

Cover photo:

Fig. 1. *Arachis hypogaea* L., flowering plant, k-168, China, 2019 Kuban Experiment Station, a branch of VIR.
Fig. 2. *A. hypogaea*, gynophores on shoots, k-1987, cv. 'Otradokubansky', Russia, 2019 Kuban Experiment Station, a branch of VIR.
Fig. 3. *A. hypogaea*, variety of shape and color of seeds of accessions in the VIR collection.

Materials for the article "Callus formation ability in cultivated peanuts (*Arachis hypogaea* L.)" by Viktoria D. Bemova et al. Photos courtesy of Viktoria D. Bemova.

Биотехнология и селекция растений

2022 Том 5 № 3

DOI: 10.30901/2658-6266-2022-3
<https://biosel.elpub.ru>

Научный рецензируемый журнал
Издается с 2018 г.

Издание зарегистрировано Федеральной службой по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)

Свидетельство о регистрации СМИ: ПИ № ФС 77 - 74475 от 30.11.2018

Учредитель: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова»

Главный редактор:

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

Заместители главного редактора:

Т. А. Гавриленко – д.б.н.

И. Н. Анисимова – д.б.н.

Л. Ю. Новикова – д.с.-х.н.

Ответственный секретарь:

И. В. Варганова

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

Plant Biotechnology and Breeding

2022 Volume 5 No 3
DOI: 10.30901/2658-6266-2022-3
<https://biosel.elpub.ru>

Scientific Peer Reviewed Journal

Founded in 2018

Founder: Federal Research Center
the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources

Editor-in-Chief:

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

Deputy Editors-in-Chief:

T. A. Gavrilenko – Dr. Sci. in Biol.

I. N. Anisimova – Dr. Sci. in Biol.

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

Executive Secretary:

I. V. Varganova

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
<i>Е. К. Хлесткина</i> ВСТУПИТЕЛЬНАЯ СТАТЬЯ	
РАЗВИТИЕ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ СЕЛЕКЦИИ	5
<i>Б. В. Ризин, Е. Р. Шрейдер, И. И. Матвиенко, А. С. Андреева, Е. В. Зув</i> <i>Научная статья</i> Доноры ультраскороспелости в селекции яровой мягкой пшеницы	
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ	15
<i>Ф. Д. Богомаз, Т. В. Матвеева</i> <i>Научная статья</i> Экспрессирующиеся последовательности генов опин-синтаз природных ГМО, установленные на основе анализа их транскриптомов	
МЕТОДЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В СЕЛЕКЦИИ И СЕМЕНОВОДСТВЕ РАСТЕНИЙ	25
<i>В. Д. Бемова, Л. Г. Макарова, Е. О. Гурина, В. А. Гаврилова, Т. В. Матвеева</i> <i>Научная статья</i> Способность к каллусообразованию у арахиса культурного (<i>Arachis hypogaea</i> L.)	
<i>Р. С. Рахмангулов</i>	33
<i>Обзорная статья</i> Применение системы CRISPR/Cas для редактирования генов декоративных культур	

CONTENTS

FROM THE EDITOR IN CHIEF	4
<i>E. K. Khlestkina</i> INTRODUCTORY ARTICLE	
DEVELOPMENT OF MODERN BREEDING METHODS	5
<i>B. V. Rigin, E. R. Schreider, I. I. Matvienko, A. S. Andreeva, E. V. Zuev</i> <i>Original article</i> Donors of ultra-earliness for spring common wheat breeding	
GENETIC BASIS OF BIOTECHNOLOGY	15
<i>F. D. Bogomaz, T. V. Matveeva</i> <i>Original article</i> Expression sequences of opine synthase genes in natural GMOs based on analysis of their transcriptomes	
BIOTECHNOLOGY TECHNIQUES IN PLANT BREEDING AND SEED PRODUCTION	25
<i>V. D. Bemova, L. G. Makarova, E. O. Gurina, V. A. Gavrilova, T. V. Matveeva</i> <i>Original article</i> Callus formation ability in cultivated peanuts (<i>Arachis hypogaea</i> L.)	
<i>R. S. Rakhmangulov</i>	33
<i>Review article</i> Application of the CRISPR/Cas system for gene editing in ornamental crops	



Уважаемые читатели!

В данном выпуске журнала мы представляем вашему вниманию статьи, посвященные развитию современных методов селекции, исследованиям, формирующим генетические основы биотехнологии, и работам, посвященным разработке и применению методов биотехнологии в селекции и семеноводстве растений.

В работе Б.В. Ригина с соавторами «Доноры ультраскороспелости в селекции яровой мягкой пшеницы» исследованы ультраскороспелые формы данной культуры из коллекции ВИР и созданные на их основе в отделе генетики ВИР константные ультраскороспелые линии. Для анализа образцов коллекции и маркер-контролируемого отбора использовали опубликованные аллель-специфичные маркеры к генам *Vrn-1*, детерминирующим реакцию растений на яровизацию, и к гену *Ppd-D1a*, контролирующему фотопериодическую реакцию. В результате доказана возможность создания рекомбинантных форм яровой мягкой пшеницы, сочетающих ультраскороспелость и достаточно высокую продуктивность колоса.

В работе Ф.Д. Богомаза и Т.В. Матвеевой «Экспрессирующиеся последовательности генов опин-синтаз природных ГМО, установленные на основе анализа их транскриптомов» актуализирован список экспрессирующихся генов опин-синтаз природных ГМО при использовании биоинформатических методов анализа. На основе выявления природно-трансгенных растений с экспрессирующими-

ся генами опин-синтаз в таксономических группах, относящихся к 11 порядкам покрытосеменных двудольных растений, подтверждены ранее полученные сведения о том, что природные ГМО встречаются в разных таксонах двудольных без четкой приуроченности к каким-либо конкретным группам.

В работе В.Д. Бемовой с соавторами «Способность к каллусообразованию у арахиса культурного (*Arachis hypogaea* L.)» показано, что из 8 исследованных генотипов арахиса мировой коллекции ВИР при выращивании зародышей арахиса на среде Мурасиге-Скуга с добавлением гормона 2,4-Д в концентрации 2 г/л наилучшей способностью к каллусообразованию на стадии выделенных зародышей отличались образцы арахиса коллекции ВИР к-698 (Марокко) и к-1987 (сорт 'Отрадокубанский', Россия). При этом следует отметить, что сорт арахиса Отрадокубанский является единственным сортом данной культуры в реестре селекционных достижений, допущенных к использованию на территории Российской Федерации. Развитие программ по селекции арахиса, в том числе при использовании ускоренных биотехнологических методов селекции, является актуальным для развивающегося на Юге России импортозамещающего производства этого востребованного растительного сырья для кондитерской промышленности.

Систематический обзор литературных данных на тему «Применение системы CRISPR/Cas для редактирования генов декоративных культур», осуществленный Р.С. Рахмангуловым, выявил, что работы по геномному редактированию ведутся уже на более чем 10 видах декоративных растений, включая петунию, хризантему, лилию, ипомею, торению и другие декоративные культуры. Интерес исследователей направлен на возможность изменения окраски, увеличение продолжительности жизни цветка, получение махровых цветков и улучшение других декоративных свойств.

Дорогие читатели, нашему журналу исполняется 4 года. В этом году мы подали заявку на включение журнала «Биотехнология и селекция растений» в список ВАК. Напоминаем, что наш журнал относится к категории «Platinum Open Access Journal» и уже индексируется в DOAJ и AGRIS. Предлагаем отслеживать актуальную информацию о включении журнала в отечественные и зарубежные базы данных на сайте журнала <https://biosel.elpub.ru/jour> и сайте ВИР <http://www.vir.nw.ru/pbi/>.

Главный редактор,
профессор РАН
Е.К. Хлесткина

Научная статья

УДК 633.11:581.132.2

DOI: 10.30901/2658-6266-2022-3-03



Доноры ультраскороспелости в селекции яровой мягкой пшеницы

Б. В. Ригин^{1*}, Е. Р. Шрейдер², И. И. Матвиенко¹, А. С. Андреева¹, Е. В. Зуев¹

¹Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

²Челябинский научно-исследовательский институт сельского хозяйства (ЧНИИСХ), п. Тимирязевский, Россия

Автор, ответственный за переписку: Борис Викторович Ригин, riginbv@mail.ru

Знания о продуктивности и генетическом контроле скорости развития ультраскороспелых линий будут способствовать эффективному их использованию в селекции мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. на высокую адаптивную способность. Исследовали ультраскороспелые линии Рико (k-65588), Римакс (k-67257), (происходящие от F₃ Rico × ‘Мах’, k-57181), серии линий Фори 1-8 (происхождение от F₄ ‘Photon’ × Rico) и Рифор 1-13, (происходящие от F_{7,8} Rico × ‘Forlani Roberto’), а также образцы ‘Фотон’ (k-55696), ‘Forlani Roberto’ (k-42641). В качестве стандартов в ВИР использовали сорта ‘Ленинградская 6’ (k-64900) и ‘Ленинградская 97’ (k-62935), в ЧНИИСХ – ‘Челяба 2’ (k-64379). Аллели генов *Vrn* и *Ppd* идентифицировали ПЦР-анализом с использованием опубликованных аллель-специфичных праймеров. Реакция на яровизацию (30 суток при 3°C) и на короткий 12-часовой день определена по методике ВИР. Ультраскороспелость линий мягкой пшеницы ассоциирована с наличием доминантных аллелей *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*, *Ppd-B1* и *Ppd-D1*. Самый короткий период всходы-колошение в двух пунктах анализа отмечен у Рико – 39,9 ± 1,49 суток, что меньше, чем у районированных сортов на 14,8 ± 1,22 суток. Генотип Рико: *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*, *Ppd-B1* и *Ppd-D1*. В генотипе Римакс найдены разные аллели генов *Ppd-D1* и *Vrn-B1*, вероятно образовавшиеся в результате рекомбинационных процессов у гибридов Рико × ‘Мах’. На фоне короткого фотопериода (12 часов) гены Рико и Римакс могут взаимодействовать по типу кумулятивной полимерии, что не наблюдается в условиях длинного дня. В отличие от других линий Рифор, линии Рифор 4 и Рифор 5, как и образец ‘Forlani Roberto’ обладают рецессивным аллелем *vrn-A1a*. Однако Рифор 4 и Рифор 5 на яровизацию не реагируют, а ‘Forlani Roberto’ отзывается на этот фактор. Возможно отсутствие реакции на яровизацию у Рифор 4 и Рифор 5, с рецессивным аллелем *vrn-A1a*, обеспечивается комплексом генов-модификаторов наряду с доминантным геном *Vrn-D1*, который сформировался в процессе генетической рекомбинации у гибридов F_{7,8} Рико × ‘Forlani Roberto’. Выделены рекомбинанты яровой мягкой пшеницы, сочетающие ультраскороспелость и сравнительно высокую продуктивность колоса. Урожай зерна с 1 м² посевов новых ультраскороспелых линий в отдельные годы может достигать 90% от урожая сорта ‘Ленинградская 97’. Ультраскороспелые линии целесообразно использовать в качестве доноров высокой скорости развития в селекции мягкой пшеницы с учетом их генетических особенностей.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., ультраскороспелость, реакция на яровизацию, фотопериод, элементы продуктивности, взаимодействие генов

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту «FGEM-2022-009» «Структурирование и раскрытие потенциала наследственной изменчивости мировой коллекции зерновых и крупяных культур ВИР для развития оптимизированного генбанка и рационального использования в селекции и растениеводстве».

Для цитирования: Ригин Б.В., Шрейдер Е.Р., Матвиенко И.И., Андреева А.С., Зуев Е.В. Доноры ультраскороспелости в селекции яровой мягкой пшеницы. *Биотехнология и селекция растений*. 2022;5(3):5-14. DOI: 10.30901/2658-6266-2022-3-03

Прозрачность финансовой деятельности. Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы. Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы.

© Ригин Б.В., Шрейдер Е.Р., Матвиенко И.И., Андреева А.С., Зуев Е.В., 2022

Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2022-3-03

Donors of ultra-earliness for spring common wheat breeding

B. V. Rigin^{1*}, E. R. Schreider², I. I. Matvienko¹, A. S. Andreeva¹, E. V. Zuev¹¹N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia²Chelyabinsk Scientific Research Institute of Agriculture (ARI), Timiryazevsky, Russia**Corresponding author:** Boris V. Rigin, riginbv@mail.ru

Knowledge of productivity and genetic control of the rate of ultra-early lines development will facilitate their use in breeding of common wheat *Triticum aestivum* L. for high adaptive capacity. The research focused on ultra-early lines Rico (k-65588), Rimax (k-67257) (progeny of F₃ Rico × ‘Max’, k-57181), Fori 1-8 line series (progeny of F₄ ‘Photon’ × Rico) and Rifor 1-13 (progeny of F₇₋₈ Rico × ‘Forlani Roberto’), as well as on the accessions ‘Photon’ (k-55696) and ‘Forlani Roberto’ (k-42641). The varieties ‘Leningradskaya 6’ (k-64900) and ‘Leningradskaya 97’ (k-62935) were used as standards in VIR, and ‘Chelyaba 2’ (k-64379) was used in Chelyabinsk ARI. The alleles of *Vrn* and *Ppd* genes were identified by PCR using the published allele-specific primers. Responses to vernalization (30 days at 3°C) and to a short 12-hour day were determined according to the VIR guidelines. The ultra-earliness of common wheat lines is associated with the presence of dominant alleles *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*, *Ppd-B1*, *Ppd-D1*, and possibly *Eps*. The shortest emergence-to-heading period at two experimental locations was noted for Rico (39.9 ± 1.49 days), which is 14.8 ± 1.22 days earlier than the development of region-adapted varieties. The Rico genotype contains *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*, *Ppd-B1* and *Ppd-D1*. In the Rimax genotype, different alleles of the *Ppd-D1* and *Vrn-B1* genes were found, possibly being a result of recombination processes in Rico × ‘Max’ hybrids. Under a short photoperiod (12 hours), the Rico and Rimax genes can interact in a cumulative polymeric mode, which is not the case in long-day environments. Unlike other Rifor lines, Rifor 4 and Rifor 5, as well as ‘Forlani Roberto’, have a recessive *vrn-A1a* allele. However, Rifor 4 and Rifor 5 do not respond to vernalization, while ‘Forlani Roberto’ is responsive to this factor. The absence of response to vernalization in Rifor 4 and Rifor 5 possessing the recessive *vrn-A1a* allele is possibly provided by a complex of modifier genes along with the dominant *Vrn-D1* gene, which was formed during recombination in F₇₋₈ Rico × ‘Forlani Roberto’ hybrids. Recombinants of spring common wheat, combining ultra-earliness and relatively high ear productivity, have been identified. Grain yield per 1 m² of new ultra-early lines in some years can reach 90% of that of the ‘Leningradskaya 97’. It is expedient to use ultra-early lines as donors of high-rate development in common wheat breeding, considering genetic peculiarities of the source lines.

Key words: *Triticum aestivum* L., ultra-early maturity, response to vernalization, photoperiod, productivity elements, gene interaction

Acknowledgements: The article was prepared as part of the State Assignment to VIR in accordance with the R&D Thematic Plan, Topic “FGEM-2022-009” “Structuring and unlocking the potential of hereditary variability of the VIR world collection of grain and cereal crops for the development of an optimized genebank and rational use in breeding and crop production”.

For citation: Rigin B.V., Schreider E.R., Matvienko I.I., Andreeva A.S., Zuev E.V. Donors of ultra-earliness for spring common wheat breeding. *Biotechnology and Plant Breeding*. 2022;5(3):5-14. DOI: 10.30901/2658-6266-2022-3-03

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. The journal’s opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employers.

© Rigin B.V., Schreider E.R., Matvienko I.I., Andreeva A.S., Zuev E.V., 2022

Введение

В России мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.) является стратегически важной зерновой культурой. Сельское хозяйство России функционирует преимущественно в зонах с плохими почвенно-климатическими условиями, вследствие этого, помимо повышения продуктивности, необходимо создавать сорта, способные реализовать свой наследственный потенциал в период вегетации соответственно особенностям конкретного района (Zuev et al., 2009; Piskarev et al., 2018). Наследственный потенциал мягкой пшеницы разнообразен по основным биологическим признакам, что способствует ее высокой адаптации к разнообразным климатическим условиям (Cockram et al., 2007; Kamran et al., 2014). В связи с этим, необходимы исследования особенностей генетических и физиологических механизмов, определяющих скороспелость развития мягкой пшеницы и создание ценных для селекции рекомбинантов (доноров), сочетающих высокую скорость развития, продуктивность и устойчивость к неблагоприятным факторам среды. Создание доноров с такими особенностями будет способствовать эффективности селекционного процесса.

У пшеницы общая продолжительность вегетационного периода в большинстве районов Российской Федерации сильно коррелирует с продолжительностью периода всходы-колошение (посев-колошение) и в основном определяется реакцией на фотопериод, а также на яровизирующие температуры. Согласно ранее опубликованным данным, наследственный потенциал вегетационного периода пшеницы в основном обусловлен генами *Ppd-D1*, *Ppd-B1*, *Ppd-A1*, ответственными за фотопериодическую реакцию растений, и генами *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*, *Vrn-D4*, определяющими реакцию на яровизацию (тип развития) (Goncharov, 1987; 2002). По силе проявления доминантные гены *Vrn* можно расположить в таком порядке: *Vrn-A1* (*Vrn 1*) > *Vrn-D1* (*Vrn 3*) > *Vrn-D4* (*Vrn 4*) > *Vrn-B 1* (*Vrn 2*). В скобках приведены ранее использованные символы. Установлено влияние на сроки колошения пшеницы генов циркадных ритмов, фитогормонов, фоторецепторов (Kiseleva, Salina, 2018). Не исключено, что наличие высоких темпов развития ультраскороспелых образцов зависит, помимо генов *Vrn* и *Ppd*, также от экспрессии генов *Eps* (*earliness per se*), которые ответственны за проявление собственно (*per se*) скороспелости. Определенные сочетания аллелей генов *Vrn* и *Ppd* могут влиять на скорость развития растений мягкой пшеницы (Potokina et al., 2012; Kamran et al., 2013).

Некоторые аллели (*Vrn-D1*) могут оказывать влияние на проявление агрономических признаков (Herndl et al., 2008; Meng et al., 2016; Tan, Yan, 2016). Обнаружена связь аллельного состава локуса *Vrn-A1* с размером и массой корневой системы мягкой пшеницы в условиях засухи (Smirnova, Pshenichnikova, 2021). В наших опытах (Rigin, 2012) не было отмечено существенного влияния доми-

нантных аллелей *Vrn* на изменения высоты растений пшеницы и признаков продуктивности: длины колоса, числа колосков и зерен, массы зерна в колосе. Возможно, это является следствием того, что основная функция генов *Vrn* в онтогенезе пшеницы регуляторная и связана с торможением развития растений перед наступлением неблагоприятных условий в период вегетации.

Заслуживает внимание группа ультраскороспелых линий мягкой пшеницы, которые генетически мало изучены, характеризуются высокой скоростью развития и поэтому могут представлять практический интерес для селекции на скороспелость.

В связи с этим в данной статье обобщены результаты наших многолетних исследований физиологических и генетических особенностей ультраскороспелых линий мягкой пшеницы, использования их в селекционных программах в качестве доноров в селекции на скороспелость. Кроме того, целью экспериментов явилась оценка изменчивости скорости развития выделенных нами ультраскороспелых форм мягкой пшеницы в контрастных условиях среды.

Материал и методы

Опыты проведены в 2002-2020 годах в двух пунктах: в условиях Северо-Запада России (Ленинградская область) на экспериментальном поле научно-производственной базы «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» (ППЛ ВИР), а также в условиях северной лесостепи предгорий Южного Урала (Челябинский научно-исследовательский институт сельского хозяйства, ЧНИИСХ).

Территория ППЛ ВИР расположена на северо-западе европейской части России в зоне избыточного увлажнения, количество осадков 550–850 мм в год. Лето прохладное, температура июля от +15 до +17,5 °С. Продолжительность периода вегетации 150–170 суток. В районе Челябинского НИИСХ среднеголетнее количество осадков за вегетационный период составляет 231 мм, гидротермический коэффициент увлажнения (влагообеспеченность почвы) равен 1,3. Для пшеницы часто складываются засушливые условия или наблюдается избыточное увлажнение, что провоцирует полегание посевов и поражение их бурой ржавчиной, альтернариозом («истеканием» семян) и другими грибными болезнями.

В двух пунктах эксперименты размещались по паровым предшественникам. В ЧНИИСХ площадь делянки контрольного питомника 10 м², конкурсного сортоиспытания 25 м². В ВИР площадь делянки экспериментальных посевов 1 м² при трёхкратной повторности. В качестве стандартов в ВИР использовали районированные в Северо-Западном районе России сорта 'Ленинградская 6' (к-64900) и 'Ленинградская 97' (к-62935). В ЧНИИСХ стандартным сортом был 'Челяба 2' (к-64379).

Объектом исследований служили созданные нами в отделе генетики ВИР константные ультраскороспелые

линии яровой мягкой пшеницы с использованием генетически различного исходного материала: Рико (к-65588), Римакс (к-67257) (потомки F_3 Рико \times 'Мах', к-57181), серии линий Фори 1-8 (потомки F_4 'Фотон' \times Рико) и Рифор 1-13 (потомки $F_{7,8}$ Рико \times 'Forlani Roberto'), а также образцы 'Фотон' (к-55696), 'Forlani Roberto' (к-42641), 'Мах' (к-57181) и стандартные сорта пшеницы.

Генотипы по локусам, влияющим на скорость развития в период всходы-колошение, анализировали с использованием опубликованных в литературе аллель-специфичных праймеров для генов *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*, детерминирующих реакцию растений на яровизацию, и гена *Ppd-D1a*, контролирующего фотопериодическую реакцию (Yan et al., 2004; Fu et al., 2005; Beales et al., 2007; Shcherban et al., 2012). В данной работе мы руководствовались ранее опубликованными методическими рекомендациями (Zlotina et al., 2012; Anisimova et al., 2018). В молекулярно-генетический анализ включали по пять растений каждой опытной линии, из трехдневных проростков которых СТАВ-методом выделяли геномную ДНК.

При анализе элементов структуры урожая вычисляли средние величины признаков и их доверительные интервалы, рассчитанные при уровне значимости 0,05. Статистический анализ выполнен с помощью программы Microsoft Excel 2010 с использованием ранее опубликованных методических указаний (Zaitsev, 1984). Фотопериодическую чувствительность пшеницы определяли по методике, используемой в ВИР (Koshkin, 2012). Реакцию на яровизацию оценивали при 3°C в течение 30 суток.

Результаты и обсуждение

В полевых условиях Северо-Запада России нами выделены три группы образцов яровой мягкой пшеницы: ультраскороспелые образцы с периодом посев-колошение меньше 52 суток, раннеспелые (52-59 суток) и среднеспелые (60-67 суток). Районированные в этом регионе сорта 'Ленинградская 6' и 'Ленинградская 97' относятся к среднеспелым формам. В данном случае нас интересовали образцы с высокой скоростью развития в период посев-колошение, то есть ультраскороспелые формы.

Отметим особенности отдельных групп созданных нами ультраскороспелых линий мягкой пшеницы *T. aestivum*, касающиеся результатов молекулярно-генетического анализа и полевого изучения.

Линии Рико и Римакс. В генотипе линий имеются доминантные аллели генов *Vrn-A1*, *Vrn-B1a*, *Vrn-D1*, *Ppd-D1a*. В родословной линии Рико (к-65588, var. *erythrosperrum*) присутствуют образцы СКФ (к-67258, var. *erythrosperrum*) и АНК-17В (к-60314, var. *albidum*). Линия Римакс (к-67257, var. *lutescens*) выделена из F_3 Рико \times 'Мах' (к-57181, var. *lutescens*, Германия). Растения Рико и Римакс не реагируют на яровизацию и слабо отзываются на фотопериод.

При анализе оценочной базы данных отдела гене-

тических ресурсов пшеницы установлено, что среди 8400 образцов, изученных с 1945 по 2018 год в условиях Ленинградской области, самый короткий период «всходы-колошение» отмечен у линии Рико – 29 суток (28–30), а у следующих за ней – линий Фори (к-65591, к-65593, к-65595) – 30 суток. По результатам наших 16-летних исследований в условиях Северо-Запада России период от посева до колошения растений Рико равен $39,9 \pm 1,49$ суток, что меньше такового районированных сортов на $14,8 \pm 1,22$ суток. Кроме того, Рико выделяется среди представителей коллекции генетических ресурсов мягкой пшеницы ВИР проявлением важных адаптивных признаков (Rigin et al., 2019).

В Челябинской области скорость развития до колошения у линии Рико больше таковой у самых скороспелых в этом районе сортов 'Челяба 2' и 'Новосибирская 15'.

В условиях Северо-Запада России линия Римакс (к-67257, var. *lutescens*), как и Рико, характеризуется самой высокой скоростью развития в период до колошения среди образцов коллекции генетических ресурсов яровой пшеницы ВИР. В генотипах Рико и Римакс обнаружены три доминантных гена *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*, контролирующих реакцию на яровизацию, и ген *Ppd-D1*, ответственный за фотопериодическую чувствительность. В генотипе Римакс найдены разные аллели генов *Ppd-D1* и *Vrn-B1*, возможно возникшие в результате процессов генетической рекомбинации у гибридов Рико \times 'Мах'.

Мы исследовали популяцию F_2 (F_3) Рико \times Римакс в условиях разного фотопериода (Rigin et al., 2021a). Оказалось, что ультраскороспелые линии Римакс и Рико имеют две пары независимо наследующихся дублированных генов с одинаковым фенотипическим проявлением, которые локализованы либо в разных хромосомах, либо в одной, но на большом расстоянии. На фоне короткого фотопериода (12 часов) эти гены могут взаимодействовать по типу кумулятивной полимерии, что не наблюдается в условиях длинного дня.

Для линий Рико и Римакс характерны средняя высота растений и длина колоса, а также невысокая продуктивность растений, что свойственно в целом для ультраскороспелых образцов мягкой пшеницы. Однако Рико имеет крупное зерно и превосходит по этому признаку сорт 'Ленинградская 6'.

Ультраскороспелые линии Рико и Римакс, за счет высокой скорости развития в период до колошения, являются ценным исходным материалом для селекции мягкой пшеницы. С использованием генетического материала Рико созданы константные рекомбинанты яровой мягкой пшеницы, сочетающие ультраскороспелость, нечувствительность к яровизации, слабую реакцию на фотопериод и сравнительно высокую продуктивность (Rigin, 2018).

Линии Фори 1-8 (к-65589-65596, var. *erythrosperrum*) выделены из F_4 Рико \times 'Фотон' (к-55696, var. *erythrosperrum*, РФ). В генотипах линий Фори, как и у ультраскороспелых Рико и Римакс, обнаружены доминантные аллели генов *Vrn-A1*, *Vrn-B1a*, *Vrn-D1*, *Ppd-D1a*.

В Челябинском НИИСХ после оценки на качество лучшие линии Фори 2, Фори 4, Фори 7 и Фори 8 были включены в простые и ступенчатые скрещивания как источники скороспелости и слабой фотопериодической чувствительности с местными, адаптированными к условиям Челябинской области, сортами пшеницы. С участием линии Фори 7 создано шесть перспективных образцов, а также линия Эритроспермум 25513. Скорость развития Фори в пунктах изучения существенно выше таковой у стандартных сортов 'Челяба 2', 'Новосибирская 15', 'Ленинградская 6' и 'Ленинградская 97'.

Сотрудники отдела генетических ресурсов пшеницы ВИР испытывали образец Рико и константные линии Фори 1-8 в семи различных экологических районах в течение трёх лет. Оказалось, что данные формы практически во всех пунктах характеризовались самыми короткими периодами «всходы-колошение» и «всходы-восковая спелость». Испытание ультраскороспелых и скороспелых образцов в разных условиях среды не привело к смене рангов по скорости развития по отношению к стандарту и к другим образцам яровой мягкой пшеницы (табл. 1, 2).

Таблица 1. Результаты испытания ультраскороспелых линий Фори 1-8 в ЧНИИСХ, 2005 год
Table 1. Results of testing ultra-early Fori 1-8 lines at the Chelyabinsk ARI, 2005

Сорт, линия/ Variety, line	Период, сут./ Period, days		Высота главного стебля, см/ Main stem height, cm	Длина влагалища флагового листа, см/ Flag leaf sheath length, cm	Сухая масса растения, г/ Dry weight of the plant, g	Главный колос/ Main ear					Масса зерна с растения, г/ Grain weight per plant, g	K _{хоз} [*] , %/ K _{econ.eff.photosyn.} , %
	Всходы-колошение/ emergence-to-heading	Всходы – восковая спелость/ emergence – wax ripeness				Длина, см/ Length, cm	Число продуктивных колосков, шт./ Number of productive spikelets, pcs	Число зерен, шт./ Number of grains, pcs	Масса зерна, г/ Grain mass, g	Масса 1000 зерен, г/ 1000 grain weight, g		
'Новосибирская 15'	38,5	77,8	74,0	15,6	3,99	5,8	11,8	24,0	0,80	33,1	1,22	30,6
'Челяба 2'	41,5	83,2	82,0	16,2	4,68	5,9	11,1	27,2	1,04	38,2	1,72	36,7
Фори 1	35,0	77,2	63,4	13,1	2,77	5,7	9,5	16,3	0,60	36,5	0,83	29,6
Фори 2	34,2	76,3	67,9	13,8	2,46	5,6	8,8	16,6	0,61	36,6	0,80	32,6
Фори 3	34,0	77,8	57,8	12,3	2,59	5,2	7,6	14,3	0,56	39,3	0,82	31,6
Фори 4	34,3	77,3	68,2	13,3	2,64	5,4	8,6	18,0	0,69	38,3	0,90	34,5
Фори 5	31,2	77,2	72,1	12,8	2,22	5,6	8,0	16,3	0,62	37,9	0,77	36,2
Фори 6	29,2	76,8	68,3	12,6	2,10	5,7	8,4	16,1	0,60	37,5	0,78	36,9
Фори 7	31,3	76,5	64,4	12,4	2,11	5,5	8,3	15,6	0,59	37,5	0,76	36,0
Фори 8	32,0	76,5	58,5	12,8	2,18	5,6	8,3	16,3	0,60	37,0	0,81	37,0
НСР ₀₅	1,21	0,86	2,92	0,52	0,49	0,33	0,54	2,03	0,083	1,32	0,18	2,10

* – K_{хоз}^{*}, % – величина хозяйственной эффективности фотосинтеза

Таблица 2. Период посев-колошение и элементы продуктивности линий Фори и стандартных сортов пшеницы, ППЛ ВИР, 2009-2017 годы

Table 2. Sowing-to-heading period and productivity elements of Fory lines and region-adapted wheat varieties, PPL VIR, 2009-2017

Линия, сорт/ Variety, line	Год/ Year	Посев-колошение, сут./ Sowing- to- heading, days	Длина колоса, см/ Ear length, cm	Число зерен в колосе, шт./ Number of grains per ear, pcs	Масса 1000 зерен, г/ 1000 grain weight, g	Масса зерна с колоса, г/ Grain weight per ear, g
Фори 1	2009	49 ± 1,3	5,8 ± 0,24	17,1 ± 1,38	46,8 ± 2,24	0,8 ± 0,05
	2017	50 ± 1,9	7,5 ± 0,15	24,9 ± 2,38	55,0 ± 1,72	1,4 ± 0,13
Фори 2	2009	47 ± 2,0	6,5 ± 0,23	21,5 ± 2,17	37,7 ± 2,78	0,8 ± 0,10
	2017	47 ± 2,3	7,0 ± 0,15	21,5 ± 2,18	50,9 ± 1,95	1,2 ± 0,05
Фори 3	2009	47 ± 2,1	5,6 ± 0,28	14,4 ± 2,35	41,7 ± 3,61	0,6 ± 0,12
	2017	52 ± 1,7	6,6 ± 0,27	21,8 ± 2,75	53,9 ± 1,46	1,2 ± 0,16
Фори 4	2009	49 ± 1,7	5,9 ± 0,30	20,5 ± 2,32	45,3 ± 2,78	0,9 ± 0,08
	2017	49 ± 2,2	7,5 ± 0,29	30,8 ± 1,64	50,0 ± 1,64	1,5 ± 0,08
Фори 5	2009	46 ± 1,9	6,0 ± 0,24	18,3 ± 0,95	46,4 ± 1,51	0,8 ± 0,05
	2017	47 ± 1,9	6,5 ± 0,17	38,2 ± 1,42	56,3 ± 1,25	1,1 ± 0,07
Фори 6	2009	46 ± 1,7	6,4 ± 0,31	19,1 ± 2,61	41,9 ± 3,66	0,8 ± 0,13
	2017	47 ± 1,7	7,7 ± 0,30	27,7 ± 1,79	51,9 ± 2,89	1,4 ± 0,14
Фори 7	2009	46 ± 0,9	6,4 ± 0,17	16,7 ± 0,10	41,9 ± 2,17	0,8 ± 0,05
	2017	47 ± 0,9	7,2 ± 0,21	22,7 ± 1,79	59,9 ± 2,21	1,3 ± 0,10
Фори 8	2009	47 ± 1,7	6,3 ± 0,32	22,5 ± 1,77	46,3 ± 2,75	1,0 ± 0,07
	2017	47 ± 1,1	7,4 ± 0,31	27,0 ± 2,25	56,4 ± 2,20	1,5 ± 0,14
Рико	2017	43 ± 1,3	6,4 ± 0,17	24,8 ± 1,35	48,1 ± 1,43	1,2 ± 0,01
‘Ленин- градская 6’	2017	57 ± 1,1	9,1 ± 0,31	42,8 ± 2,09	45,8 ± 2,01	1,9 ± 0,15
‘Ленин- градская 97’	2017	57 ± 2,1	8,5 ± 0,53	47,9 ± 2,24	39,9 ± 1,95	1,8 ± 0,25

В этих условиях линия Рико и линии Фори характеризовались средним колосом, слабой его озернёностью и в целом низкой урожайностью. В более благоприятных условиях в колосе ультраскороспелых линий наблюдали до 41-46 зерен. В ППЛ ВИР масса зерна с колоса у линии Фори 1 составила 77%, у линий Фори 4 и Фори 8 – 83% от массы зерна с колоса сорта ‘Ленинградская 97’. В Челябинском НИИСХ показано, что ультраскороспелые линии по величине хозяйственной эффективности фотосинтеза ($K_{хоз}$, %) в большинстве случаев не уступали стандартному сорту ‘Челяба 2’ (см. табл. 1). Эти данные указывают на возможность использования линий Фори в селекции пшеницы на скороспелость.

Линии Рифор. Одним из направлений селекции яровой пшеницы с высокой скоростью развития должно быть увеличение продуктивности колоса, в частности, за счет повышения озернённости колосков. С этой целью были получены гибриды от скрещивания ультраскороспелой линии Рико с образцом ‘Forlani Roberto’ (к-42641, var. *erythroleucum*, Сан-Марино). Растения ‘Forlani Roberto’ очень позднеспелые, реагируют на яровизацию и короткий день, но в благоприятных условиях имеют продуктивный колос с 5-6 зерновками в колоске.

Во втором и последующих поколениях (до F_7) гибрид-

ной комбинации Рико × ‘Forlani Roberto’ был проведён отбор фенотипов с высокими параметрами продуктивности и темпом развития, равным скорости развития Рико. Многозерность колоска продуктивных гибридов зависела от экспрессии двух или трех генов и влияния внешней среды. В литературе отмечен случай контроля этого признака у мягкой пшеницы двумя доминантными генами и серией модификаторов (Sun et al., 2009). Среди потомств F_1-F_{6-7} Рико × ‘Forlani Roberto’ нами выделены константные ультраскороспелые линии Рифор с хорошо озернённым колосом и крупным зерном (масса 1000 зёрен 45-50 г), значительно превышающие родительскую форму Рико, а по некоторым параметрам продуктивности приближающиеся к районированным сортам пшеницы (Rigin et al., 2018).

Ультраскороспелые линии Рифор в основном на яровизацию не реагируют, нечувствительны или слабо чувствительны к короткому 12-часовому дню (Rigin et al., 2012). В генотипах ультраскороспелых линий Рифор 1-3 и Рифор 6-10, Rимах и Рико, помимо доминантных аллелей *Vrn-B1a*, *Vrn-D1*, *Ppd-D1a*, содержится и доминантный аллель *Vrn-A1a*, что способствует почти полному ингибированию реакции растений этих линий на яровизацию (Rigin et al., 1921b). Все же в этом опыте ультраскорос-

спелые линии Рифор 4 и Рифор 5, как и образец ‘Forlani Roberto’, имеют рецессивный аллель *vrn-A1*, однако ультраскороспелые линии Рифор 4 и Рифор 5 на яровизацию не реагируют, а ‘Forlani Roberto’ существенно реагирует на этот фактор. Сходные результаты получены в трёх независимых экспериментах. Мы предположили, что одной из причин отсутствия реакции на яровизацию линий Рифор 4 и Рифор 5 с рецессивным аллелем *vrn-A1a* является комплекс генов-модификаторов с доминантным аллелем *Vrn-D1*, который мог сформироваться в про-

цессе рекомбинации генов у гибридов F₇₋₈ Рико × ‘Forlani Roberto’.

Такая генетическая особенность линий Рифор 4 и Рифор 5 существенно не отразится на эффективности использования этих линий в селекции (Rigin et al., 2021b) в качестве доноров ультраскороспелости.

О скорости развития линий Рифор в период посев-колошение и их продуктивности можно судить по данным таблицы 3.

Таблица 3. Период посев-колошение и элементы продуктивности линий Рифор, родительских форм и стандартных сортов мягкой пшеницы, ППЛ ВИР

Table 3. Sowing-to-heading period and productivity elements of Rifor lines, parental forms and standard varieties of common wheat, PPL VIR

Линия, сорт/ Variety, line	Год/ Year	Посев – колошение, сут./ Sowing-to- heading, days	Длина колоса, см/ Ear length, cm	Число зерен в колосе, шт./ Number of grains per ear, pcs	Масса 1000 зерен, г/ 1000 grain weight, g	Масса зерна с колоса, г/ Grain weight per ear, g
Рифор 1	2015	39 ± 0,3	6,6 ± 0,21	33,2 ± 1,63	55,0 ± 1,13	1,8 ± 0,11
	2017	43 ± 0,7	7,4 ± 0,30	35,4 ± 3,40	51,7 ± 2,45	1,9 ± 0,19
	2020	37 ± 0,7	7,4 ± 0,23	33,3 ± 1,90	39,8 ± 1,87	1,3 ± 0,07
Рифор 2	2015	39 ± 0,5	6,2 ± 0,4	30,7 ± 2,3	42,2 ± 2,40	1,5 ± 0,2
	2017	47 ± 1,0	6,4 ± 0,29	34,5 ± 2,41	44,4 ± 2,40	1,5 ± 0,14
	2020	37 ± 1,7	6,6 ± 0,19	27,6 ± 2,03	39,1 ± 1,87	1,1 ± 0,06
Рифор 3	2015	39 ± 0,5	6,1 ± 0,21	34,8 ± 2,2	36,1 ± 3,4	1,3 ± 0,2
	2017	47 ± 1,2	6,5 ± 0,20	37,5 ± 2,3	42,6 ± 1,4	1,5 ± 0,11
	2020	37 ± 1,3	6,3 ± 0,33	28,5 ± 1,99	34,9 ± 0,07	1,1 ± 0,12
Рифор 4	2015	43 ± 1,6	4,9 ± 0,20	35,6 ± 2,06	38,1 ± 1,6	1,8 ± 0,11
	2017	49 ± 0,5	5,2 ± 0,12	43,0 ± 2,49	43,5 ± 1,16	1,9 ± 0,13
Рифор 5	2015	38 ± 0,7	5,9 ± 0,33	31,1 ± 2,88	39,1 ± 1,17	1,6 ± 0,23
	2017	47 ± 0,7	6,2 ± 0,27	42,2 ± 2,4	45,2 ± 2,41	1,3 ± 0,11
	2020	38 ± 0,1	4,6 ± 0,17	27,4 ± 1,66	38,4 ± 1,62	1,0 ± 0,04
Рифор 6	2015	43 ± 1,0	6,1 ± 0,22	34,2 ± 2,32	50,5 ± 1,80	1,7 ± 0,14
	2017	46 ± 1,0	7,2 ± 0,11	42,7 ± 1,54	48,8 ± 1,78	2,1 ± 0,12
	2020	37 ± 1,3	6,75 ± 0,1	30,5 ± 1,79	37,8 ± 2,05	2,2 ± 0,18
Рифор 7	2015	42 ± 2,2	5,9 ± 0,12	32,7 ± 1,87	49,6 ± 1,38	1,6 ± 0,13
	2017	47 ± 2,2	6,5 ± 0,17	33,4 ± 2,90	47,2 ± 2,13	1,6 ± 0,13
	2020	37 ± 1,0	6,7 ± 0,23	31,5 ± 1,92	37,7 ± 3,50	2,0 ± 0,11
Рифор 8	2015	49 ± 1,3	7,1 ± 0,19	40,3 ± 1,36	53,0 ± 1,33	2,1 ± 0,03
	2017	47 ± 1,3	8,8 ± 0,69	41,9 ± 2,92	57,3 ± 1,54	2,4 ± 0,14
	2020	41 ± 0,9	6,8 ± 0,38	30,4 ± 3,72	40,8 ± 1,09	1,2 ± 0,15
Рифор 9	2017	41 ± 1,3	6,9 ± 0,16	40,3 ± 2,2	50,8 ± 1,21	2,0 ± 0,11
	2020	37 ± 0,9	6,5 ± 0,27	32,9 ± 2,54	38,3 ± 2,53	1,2 ± 0,26
Рифор 10	2015	40 ± 1,3	6,1 ± 0,21	38,9 ± 2,12	40,7 ± 1,23	1,6 ± 0,09
	2017	44 ± 1,3	6,2 ± 0,20	39,4 ± 2,05	44,4 ± 2,20	1,7 ± 0,10
	2020	37 ± 1,7	6,3 ± 0,24	33,9 ± 2,35	32,2 ± 2,67	1,0 ± 0,12
Рифор 11	2020	37 ± 1,7	7,5 ± 0,19	27,9 ± 1,78	48,7 ± 1,61	1,3 ± 0,08
Рифор 12	2020	37 ± 1,3	7,9 ± 0,20	34,6 ± 2,06	47,1 ± 3,25	1,7 ± 0,16
Рифор 13	2020	37 ± 1,3	7,8 ± 0,18	36,3 ± 1,63	48,3 ± 1,34	1,8 ± 0,11
‘Челяба 2’	2020	39 ± 1,3	7,4 ± 0,36	33,6 ± 2,0	52,5 ± 1,55	1,8 ± 0,5

Линия, сорт/ Variety, line	Год/ Year	Посев – колошение, сут./ Sowing-to- heading, days	Длина колоса, см/ Ear length, cm	Число зерен в колосе, шт./ Number of grains per ear, pcs	Масса 1000 зерен, г/ 1000 grain weight, g	Масса зерна с колоса, г/ Grain weight per ear, g
Рико	2015	38 ± 2,3	5,5 ± 0,20	22,2 ± 1,80	44,7 ± 1,32	1,9 ± 0,09
	2017	39 ± 1,5	6,4 ± 0,17	24,8 ± 1,03	48,1 ± 1,42	1,2 ± 0,09
	2020	35 ± 2,5	6,6 ± 0,35	28,3 ± 2,23	46,3 ± 2,31	1,2 ± 0,12
‘Ленинградская 97’	2015	50 ± 1,2	7,4 ± 0,45	40,4 ± 3,04	41,3 ± 1,27	1,7 ± 0,14
	2017	57 ± 1,5	8,5 ± 0,53	47,0 ± 4,24	39,9 ± 1,95	1,9 ± 0,25
	2020	58 ± 2,5	9,08 ± 0,42	38,3 ± 3,4	44,1 ± 2,27	1,7 ± 0,22
‘Ленинградская 6’	2015	50 ± 2,0	7,7 ± 0,32	38,7 ± 2,80	44,2 ± 3,36	1,6 ± 0,15
	2017	57 ± 1,7	9,1 ± 0,37	42,8 ± 2,09	45,8 ± 2,08	1,9 ± 0,15
	2020	54 ± 1,7	7,7 ± 0,42	33,4 ± 1,78	33,9 ± 1,62	1,5 ± 0,07
‘Forlani Roberto’	2015	69 ± 2,0	8,0 ± 0,63	50,4 ± 4,8	40,2 ± 5,3	2,1 ± 0,40

Показано, что линии Рифор незначительно отличались от исходной линии Рико по темпам развития и оказались более скороспелыми, чем стандартные сорта мягкой пшеницы (приблизительно на 10-13 дней). Исключением является Рифор 8, которая превышает стандарты по скороспелости только на 1-2 дня. Еще одна закономерность: у всех исследованных образцов пшеницы в 2020 году отмечено снижение озерненности колоса и веса 1000 зёрен, что определенно связано с плохими погодными условиями. Некоторые линии обладают крупным зерном. Так, у линии Рифор 1 масса 1000 зерен в 2015 году составила 55 г, у сорта ‘Ленинградская 6’ – 44,2 г.

Интересно, что урожай зерна с 1 м² посевов линий Рифор 1, Рифор 8, Рифор 6 и Рифор 7 в 2015 году составлял, соответственно, 81, 82, 84, 94% от урожая стандартного сорта ‘Ленинградская 97’. Период от посева до колошения ультраскороспелых линий Рифор в условиях Северо-Запада России равен 37-49 суток, у стандартных сортов ‘Ленинградская 6’ и ‘Ленинградская 97’ – 50-57 и 50-58 суток, соответственно. У всех линий выявлены слабая фотопериодическая чувствительность и отсутствие реакции на яровизацию. При испытании изучаемых форм в различных экологических условиях не зафиксировано смены ранга по отношению к стандартным сортам пшеницы по величине периода посев-колошение. Эти данные указывают на эффективность использования методов традиционной селекции.

Принимая во внимание результаты многолетних исследований, можно заключить, что нам удалось показать возможность создания рекомбинантов яровой мягкой пшеницы, сочетающих ультраскороспелость и достаточно высокую продуктивность колоса.

Заключение

Созданы новые ультраскороспелые линии яровой мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. для осуществления дальнейшей селекции на скороспелость: Рико, Римакс, серии линий Фори 1-8 и Рифор 1-13. Они имеют самый

короткий вегетационный период по сравнению с образцами коллекции генетических ресурсов пшеницы ВИР, слабо чувствительны к фотопериоду и не реагируют на яровизацию.

Скорость развития ультраскороспелых линий детерминирована генами *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*, *Ppd-D*.

В генотипе Римакс найдены разные аллели генов *Ppd-D1* и *Vrn-B1*, очевидно возникшие в результате процессов генетической рекомбинации у гибридов Рико × ‘Мах’. На фоне короткого фотопериода (12 часов) гены у линий Рико и Римакс могут взаимодействовать по типу кумулятивной полимерии, что не проявляется в условиях длинного дня. В отличие от других линий Рифор, линии Рифор 4 и Рифор 5 имеют рецессивный аллель *vrn-Ala* и не реагируют на яровизацию, что, вероятно, связано с наличием комплекса генов-модификаторов и доминантного гена *Vrn-D1*, который сформировался в процессе рекомбинации у гибридов F_{7,8} Рико × ‘Forlani Roberto’.

В многолетних опытах показана возможность выделения рекомбинантов яровой мягкой пшеницы, сочетающих ультраскороспелость и достаточно высокую продуктивность колоса, а также преодоления отрицательной связи между этими признаками (Rigin et al., 2018).

В условиях Ленинградской области урожай зерна с 1 м² посевов новых ультраскороспелых линий мягкой пшеницы в отдельные годы может достигать 90% от урожая стандартного сорта ‘Ленинградская 97’ при высокой скорости развития до колошения.

References / Литература

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

- Санкт-Петербург: ВИР; 2018). DOI: 10.30901/978-5-905954-81-8
- Beales J., Turner A., Griffiths S., Snape J., Laurie D. A pseudo response regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive *Ppd-D1a* mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2007;115(5):721-733. DOI: 10.1007/s00122-007-0603-4
- Cockram J., Jones H., Leigh F.J., O'Sullivan D., Powell W., Laurie D.A., Greenland A.J. Control of flowering time in temperate cereals: genes, domestication, and sustainable productivity. *Journal of Experimental Botany*. 2007;58(6):1231-1244. DOI: 10.1093/jxb/erm042
- Fu D., Szucs P., Yan L., Helguera M., Skinner J.S., von Zitzewitz J., Hayes P.M., Dubcovsky J. Large deletions within the first intron in *VRN-1* are associated with spring growth habit in barley and wheat. *Molecular Genetics and Genomics*. 2005;273(1):54-65. DOI: 10.1007/s00438-004-1095-4
- Herndl M., White J.W., Graeff S., Claupein W. The impact of vernalization requirement, photoperiod sensitivity and earliness *per se* on grain protein content of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*. 2008;163:309-320. DOI: 10.1007/s10681-008-9671-z
- Goncharov N.P. Genetic control of photoperiodic sensitivity in soft wheat. *Research Bulletin of the N.I. Vavilov Institute of Plant Industry*. 1987;174:7-11. [In Russian] (Гончаров Н.П. Генетический контроль фотопериодической чувствительности у мягкой пшеницы. *Научно-технический бюллетень Всесоюзного научно-исследовательского института растениеводства им. Н.И. Вавилова*. 1987;174:7-11).
- Goncharov N.P. Comparative genetics of wheats and their related species. V.K. Shumny [ed.]. Novosibirsk: Siberian University Press; 2002. [in Russian] (Гончаров Н.П. Сравнительная генетика пшениц и их сородичей. Новосибирск: Сибирское университетское издательство; 2002).
- Kamran A., Iqbal M., Navabi A., Randhawa H., Pozniak C., Spaner D. Earliness *per se* QTLs and their interaction with the photoperiod insensitive allele *Ppd-D1a* in the Cutler 3 AC Barrie spring wheat population. *Theoretical and Applied Genetics*. 2013;126:1965-1976. DOI: 10.1007/s00122-013-2110-0
- Kamran A., Iqbal M., Spaner D. Flowering time in wheat (*Triticum aestivum* L.): a key factor for global adaptability. *Euphytica*. 2014;197(1):1-26. DOI: 10.1007/s10681-014-1075-7
- Kiseleva A.A., Salina E.A. Genetic regulation of common wheat heading time. *Russian Journal of Genetics*. 2018;54(4):375-388. DOI: 10.1134/S1022795418030067
- Koshkin V.A. Methodological approaches in the diagnosis of photoperiodic sensitivity and early maturation of plants. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*; 2012;70:118-129. [In Russian] (Кошкин В.А. Методические подходы в диагностике фотопериодической чувствительности и скороспелости растений. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2012;170:118-129).
- Meng L.Z., Liu H.W., Yang L., Mai C.Y., Yu L.Q., Li H.J., Zhang H.J., Zhou Y. Effects of the *Vrn-D1b* allele associated with facultative regrowth habit on agronomic traits in common wheat. *Euphytica*. 2016;211:113-122. DOI: 10.1007/s10681-016-1747-6
- Piskarev V.V., Zuev E.V., Brykova A.N. Sources for the breeding of soft spring wheat in the conditions of Novosibirsk region. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(7):784-794. [In Russian] (Пискарев В.В., Зуев Е.В., Брыкова А.Н. Исходный материал для селекции яровой мягкой пшеницы в условиях Новосибирской области. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2018;22(7):784-794). DOI: 10.18699/VJ18.422
- Potokina E.K., Koshkin V.A., Alekseeva E.A., Matvienko I.I., Filobok V.A., Bepalova L.A. The combination of the *Ppd* and *Vrn* gene alleles determines the heading date in common wheat varieties. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2012;2(4):311-318. [In Russian] (Потокина Е.К., Кошкин В.А., Алексеева Е.А., Матвиенко И.И., Филобок В.А., Беспалова Л.А. Сочетание аллелей генов *Ppd* и *Vrn* определяет срок колошения у сортов мягкой пшеницы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2012;2(4):311-318). DOI: 10.1134/S2079059712040089
- Rigin B.V. Spring type of development of common wheat (*Triticum aestivum* L.): phenological and genetic aspects. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2012;170:17-33. [In Russian] (Ригин Б.В. Яровой тип развития мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.): фенологический и генетический аспекты. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2012;170:17-33).
- Rigin B.V., Zuev E.V., Tyunin V.A., Schreider E.R., Pyzhenkova Z.S., Matvienko I.I. Breeding and genetic aspects of creating productive forms of fast-developing spring bread wheat. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2018;179(3):194-202. [In Russian] (Ригин Б.В., Зуев Е.В., Тюнин В.А., Шрейдер Е.Р., Пыженкова З.С., Матвиенко И.И. Селекционно-генетические аспекты создания продуктивных форм мягкой яровой пшеницы с высокой скоростью развития. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2018;179(3):194-202). DOI: 10.30901/2227-8834-2018-3-194-202
- Rigin B.V., Zuev E.V., Andreeva A.S., Pyzhenkova Z.S., Matvienko I.I. The line Rico is the earliest maturing accession in the VIR collection of spring bread wheat. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2019;180(4):94-98. [In Russian] (Ригин Б.В., Зуев Е.В., Андреева А.С., Пыженкова З.С., Матвиенко И.И. Линия Рико – самая скороспелая среди представителей коллекции яровой мягкой пшеницы ВИР. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2019;180(4):94-98). DOI: 10.30901/2227-8834-2019-4-94-98
- Rigin B.V., Zuev E.V., Andreeva A.S., Matvienko I.I., Pyzhenkova Z.S. Comparative analysis of the inheritance of a high development rate in the Rimax and Rico lines of spring bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2021a;182(2):1-8. [In Russian] (Ригин Б.В., Зуев Е.В., Андреева А.С., Матвиенко И.И., Пыженкова З.С. Сравнительный анализ наследования высокой скорости развития линий Римакс и Рико яровой мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2021a;182(2):1-8). DOI: 10.30901/2227-8834-2021-2-1-8
- Rigin B.V., Zuev E.V., Matvienko I.I., Andreeva A.S. Molecular labeling of *Vrn*, *Ppd* genes and vernalization response of the ultra-early lines of spring bread wheat *Triticum aestivum* L. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021b;4(3):26-36. [In Russian] (Ригин Б.В., Зуев Е.В., Матвиенко И.И., Андреева А.С. Молекулярное маркирование генов *Vrn*, *Ppd* и реакция на яровизацию ультраскороспелых линий яровой мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. *Биотехнология и селекция растений*. 2021b;4(3):26-36). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-3-02
- Shcherban A.B., Efremova T.T., Salina E.A. Identification of a new *Vrn-B1* allele using two near-isogenic wheat lines with difference in heading time. *Molecular Breeding*. 2012;29(3):675-685. DOI: 10.1007/s11032-011-9581-y
- Smirnova O.G., Pshenichnikova T.A. Relationship between the genetic status of the *Vrn-1* locus and the size of the root system of common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(8):805-811. [In Russian] (Смирнова О.Г., Пшеничникова Т.А. Связь между генетическим статусом локуса *Vrn-1* и размером корневой системы мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;25(8):805-811). DOI: 10.18699/VJ21.093
- Sun D., Fung J., Sun J. Inheritance of genes controlling supernumerary spikelet in wheat line 51885. *Euphytica*. 2009;167(2):173-179. DOI: 10.1007/s10681-008-9854-7
- Tan C.N., Yan L. Duplicated, deleted and translocated *VRN2* genes in hexaploid wheat. *Euphytica*. 2016;208:277-284. DOI: 10.1007/s10681-015-1589-7
- Yan M., Helguera M., Kato K., Fukuyama S., Sherman J., Dubcovsky J. Allelic variation at the *VRN1* promoter region in polyploid wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 2004;109(8):1677-1686. DOI: 10.1007/s00122-004-1796-4
- Zaitsev G.N. Mathematical statistics in experimental botany (Matematicheskaya statistika v eksperimentalnoy botanike). Moscow: Nauka; 1984. [In Russian] (Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике.

Москва: Наука; 1984).
Zlotina M.M., Kiseleva A.A., Potokina E.K. The use of allele-specific markers of the *Vrn* and *Ppd* genes for express diagnostics of photoperiod sensitivity and the need for vernalization in common wheat and barley. Methodical instructions. St. Petersburg: VIR; 2012. [In Russian] (Злотина М.М., Киселева А.А., Потокينا Е.К. Использование аллель-специфических маркеров генов *Vrn* и *Ppd* для экспресс-диагностики фотопериодической чувствительности и потребности в яровизации мягкой пшеницы и ячменя. Методические указания. Санкт-Петербург: ВИР; 2012).
Zuev E.V., Brykova A.N., Nikonov V.I., Zakharov V.G., Terekhin M.V.,

Potokina S.A., Ivanova V.S., Rosseeva L.P., Zyryanova A.F., Syukov V.V., Botoev B.B., Likhenko I.E., Moiseenko L.M. Results of studying the collection of spring soft wheat for early maturity in breeding centers of Russia. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2009;166:101-106. [In Russian] (Зуев Е.В., Брыкова А.Н., Никонов В.И., Захаров В.Г., Терехин М.В., Потокина С.А., Иванова В.С., Росеева Л.П., Зырянова А.Ф., Сюков В.В., Ботоев Б.Б., Лихенко И.Е., Моисеенко Л.М. Результаты изучения коллекции яровой мягкой пшеницы на скороспелость в селекцентрах России. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2009;166:101-106).

Информация об авторах

Борис Викторович Ригин, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, отдел генетики, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, riginbv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9848-5795>

Екатерина Робертовна Шрейдер, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория селекции яровой пшеницы, Челябинский научно-исследовательский институт сельского хозяйства (ФГБНУ «Челябинский НИИСХ»), Россия 456404, Челябинская область, Чебаркульский район, поселок Тимирязевский, ул. Чайковского, 14, shreyder11@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6094-962x>

Инна Ивановна Матвиенко, научный сотрудник, отдел генетики, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, 181947@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8233-5047>

Анна Сергеевна Андреева, младший научный сотрудник, отдел генетических ресурсов пшеницы, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), 190000, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, karandash_85@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6754-2897>

Евгений Валерьевич Зуев, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, и.о. заведующего отделом, отдел генетических ресурсов пшеницы, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), 190000, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, e.zuev@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9259-4384>

Information about the authors

Boris V. Rigin, Dr. Sci. (Biology), Professor, Leading Researcher, Department of Genetics, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, riginbv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9848-5795>

Ekaterina R. Shreyder, Cand. Sci. (Agriculture), Leading Researcher, Spring Wheat Breeding Laboratory, Chelyabinsk Research Institute of Agriculture (ARI), 14, Tchaikovsky Street, village Timiryazevsky, district Chebarkul, Chelyabinsk region, 456404, Russia, shreyder11@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6094-962x>

Inna I. Matvienko, Researcher, Department of Genetics, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, 181947@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8233-5047>

Anna S. Andreeva, Researcher, Department of Wheat Genetic Resources, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, karandash_85@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6754-2897>

Evgeniy V. Zuev, Cand. Sci. (Agriculture), Leading Researcher, Acting Head of Wheat Department, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, e.zuev@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9259-4384>

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 25.08.2022; одобрена после рецензирования 12.09.2022; принята к публикации 26.09.2022.

The article was submitted on 25.08.2022; approved after reviewing on 12.09.2022; accepted for publication on 26.09.2022.

Научная статья

УДК 574/577

DOI: 10.30901/2658-6266-2022-3-02



Экспрессирующиеся последовательности генов опин-синтаз природных ГМО, установленные на основе анализа их транскриптомов

Ф. Д. Богомаз¹, Т. В. Матвеева²¹Лицей 281 Адмиралтейского района, Санкт-Петербург, Россия²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия**Автор, ответственный за переписку:** Татьяна Валерьевна Матвеева, radishlet@gmail.com

Агробактерии – это природная система доставки генетического материала, которую люди используют для получения генно-инженерно модифицированных растений – ГМО. В природе тоже возникают ГМО с участием агробактерий. В 2019 году список известных природных ГМО был расширен на порядок, а также были найдены факты в пользу экспрессии агробактериальных генов в природных ГМО. Частота этого явления для двудольных растений была оценена величиной в 7 %. Преобладающими генами агробактериального происхождения в природных ГМО оказались гены опин-синтаз. Вероятно, они выполняют важные функции в природных ГМО. В 2021 году вышла статья с обновленным списком природных ГМО, однако обновления списка экспрессирующихся генов в природных ГМО с 2019 года не проводили. Целью данной работы является актуализация списка экспрессирующихся генов опин-синтаз природных ГМО. Методы исследования включали биоинформатический поиск с использованием запросов на основе последовательностей белков опин-синтаз из *Agrobacterium rhizogenes*, *A. tumefaciens* и *A. vitis*, их гомологов из растений *Ipomoea* и *Nicotiana* в базе данных TSA Национального центра биотехнологической информации (NCBI) по алгоритму TBLASTN с настройками по умолчанию. Результатом исследования стало пополнение списка природных ГМО с экспрессирующимися генами опин-синтаз еще на 18 видов, причем 12 из них относятся к родам, где ранее природные ГМО описаны не были (*Albizia*, *Cenostigma*, *Averrhoa*, *Gynostemma*, *Eurycoma*, *Gypsophila*, *Myosoton*, *Camptotheca*, *Gustavia*, *Eschweilera*, *Cestrum*, *Jasminum*, *Paulownia*). Анализ разнообразия обнаруженных последовательностей показал, что преобладают среди них гомологи кукумопин- и микимопин-синтаз. Конечные продукты этих генов являются оптическими изомерами. В перспективе имеет смысл начать изучение функций опин-синтаз в растениях именно с этих генов.

Ключевые слова: природные ГМО, опин-синтазы, транскриптомы.**Благодарности:** Статья подготовлена на основе исследовательской работы, представленной на «Олимпиаде школьников Санкт-Петербурга по биологии» в рамках работ по гранту РНФ 21-14-00050.**Для цитирования:** Богомаз Ф.Д., Матвеева Т.В. Экспрессирующиеся последовательности опин-синтаз природных ГМО на основе анализа их транскриптомов. *Биотехнология и селекция растений*. 2022;5(3):15-24. DOI: 10.30901/2658-6266-2022-3-02

Прозрачность финансовой деятельности. Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы. Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы.

© Богомаз Ф.Д., Матвеева Т.В., 2022

Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2022-3-02

Expression sequences of opine synthase genes in natural GMOs based on analysis of their transcriptomes

Fedor D. Bogomaz¹, Tatyana V. Matveeva²

¹Lyceum 281 of the Admiralteysky District, St. Petersburg, Russia

²St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

Corresponding author: Tatyana V. Matveeva, radishlet@gmail.com

Agrobacterium is a natural genetic material delivery system that humans use to produce genetically modified plants (GMO). In nature, GMOs also occur with the participation of agrobacteria. In 2019, the list of known natural GMOs was expanded by an order of magnitude, and facts were found in favor of the expression of agrobacterial genes in natural GMOs. The frequency of this phenomenon for dicotyledon plants has been estimated at 7 percent. Opine synthase genes turned out to be the predominant ones of agrobacterial origin in natural GMOs. They probably perform important functions in natural GMOs. In 2021, an article was published with an updated list of natural GMOs, but the list of genes expressed in natural GMOs has not been updated since 2019. The aim of this work is to update the list of opine synthase genes expressed in natural GMOs. The research methods included bioinformatic search using queries based on the sequences of opine synthase proteins from *Agrobacterium rhizogenes*, *A. tumefaciens* and *A. vitis*, their homologues from *Ipomoea* and *Nicotiana* plants, in the TSA database of the National Center for Biotechnology Information (NCBI) using the TBLASTN algorithm with default settings. The study resulted in the addition of another 18 species to the list of natural GMOs with expressed opine synthase genes, 12 of which belong to genera where natural GMOs were not previously described (*Albizia*, *Cenostigma*, *Averrhoa*, *Gynostemma*, *Eurycoma*, *Gypsophila*, *Myosoton*, *Camptotheca*, *Gustavia*, *Eschweilera*, *Cestrum*, *Jasminum*, and *Paulownia*).

An analysis of the diversity of the detected sequences showed that homologues of cucumopine and mikimopine synthase predominate among them. The end products of these genes are optical isomers. In the future, it makes sense to start studying the functions of opine synthases in plants from these genes.

Key words: natural GMOs, opine synthases, transcriptomes.

Acknowledgements: The article is based on research work presented at the Biological Olympiad for Schoolchildren of St. Petersburg within the framework of the Grant RSF 21-14-00050

For citation: Bogomaz F.D., Matveeva T.V. Expression sequences of opine synthases of natural GMOs based on analysis of their transcriptomes. *Biotechnology and Plant Breeding*. 2022;5(3):15-24. DOI: 10.30901/2658-6266-2022-3-02

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. The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employers.

© Bogomaz F.D., Matveeva T.V., 2022

Введение

Агробактерии – это природная система доставки генетического материала, которую люди используют для получения генетически модифицированных организмов (ГМО), а точнее растений, измененных с помощью методов генетической инженерии (Chilton, 1980; Gleba, 1998). В группе почвенных бактерий, известных под общим названием агробактерии, есть несколько видов, которые могут заражать растения и вызывать образование косматых корней или опухолей. Такие опухоли называют корончатыми галлами. Они состоят из недифференцированной опухолевой ткани, растущей в месте заражения. Клетки корончатых галлов и косматых корней во многих отношениях напоминают раковые клетки животных. Они имеют способность к неограниченному росту даже при культивировании *in vitro* в отсутствие фитогормонов. Собственно опухолеродным агентом у этих бактерий является Ti (или Ri)-плазида, которая частично интегрируется в хромосомы растений. Переносимая в хромосому ДНК называется Т-ДНК (transferred DNA), ее длина составляет 12–22 тысяч пар оснований. Она кодирует онкогены и ферменты синтеза опинов – производных аминокислот, которые используются бактерией как источник углерода, азота и энергии (Nester, 2014; Lutova, 2000).

Опины – это довольно специфические соединения, продукт конденсации аминокислот с кетокислотами или производными сахаров. Классические опины являются N-карбоксиалкиламинокислотами. К опинам также относят ряд других соединений, выполняющих сходные с классическими опидами функции. N-карбоксиалкиламинокислоты образуются при восстановительной конденсации аминокислоты и кетокислоты. Реакция происходит между аминогруппой аминокислоты и кетогруппой кетокислоты. На сегодня известно, что агробактерии могут усваивать опины, причем только те, синтез которых происходит в опухоли, индуцированной определенным штаммом. Иными словами, набор вырабатываемых опухолью опинов зависит от штамма агробактерии, а не от вида растения-хозяина (Vladimirov et al., 2015). Таким образом, в результате трансформации на растении разрастаются опухоли, которые могут вырабатывать опины для питания бактерии, штамм которой использован для трансформации данного растения. Эти опухоли можно рассматривать как трансгенные ткани на нетрансгенном растении, а само явление в целом получило название генетической колонизации (Matveeva, Sokornova, 2017).

Реконструированные штаммы агробактерий, содержащие неонкогенные варианты Ti-плазмид и обладающие повышенной вирулентностью, стали основой одного из наиболее популярных методов генетической трансформации (Chilton, 1980). Позже стало известно, что трансгенные растения возникают в природе и без участия человека (White et al., 1983). Такие растения ста-

ли называть природно-трансгенными (пГМО). Первые пГМО, явившиеся результатом древней агробактериальной трансформации, были описаны в пределах рода *Nicotiana* L., далее они были найдены молекулярно-генетическими методами в пределах еще двух родов: *Linaria* Mill. и *Ipomoea* L. (Kyndt et al., 2015; Matveeva, Sokornova, 2017).

Развитие методов секвенирования нового поколения открывает возможности для исследования геномов растений, при этом количество данных об их структуре растет лавинообразно. Постоянно пополняемые базы данных являются ценным источником для поиска новых пГМО, проводимого на кафедре генетики и биотехнологии Санкт-Петербургского государственного университета (Matveeva, 2021). Список видов пГМО, известных на сегодня, представлен в таблице 1. Приуроченности природно-трансгенных видов двудольных растений к конкретной таксономической группе не отмечено. Природные ГМО описаны в пределах порядков Malpighiales Juss. ex Bercht. & J. Presl., Fabales Bromhead, Rosales Bercht. & J. Presl., Cucurbitales Juss. ex Bercht. & J. Presl., Fagales Engl., Brassicales Bromhead, Myrtales Juss. ex Bercht. & J. Presl., Sapindales Dumortier, Caryophyllales Juss. ex Bercht. & J. Presl., Cornales Link, Ericales Bercht. & J. Presl., Lamiales Bromhead, Solanales Juss. ex Bercht. & J. Presl. По предварительным оценкам, около семи процентов двудольных растений могут содержать в геномах следы агробактериальной трансформации. Эта оценка основана на доле пГМО среди видов двудольных с секвенированными геномами (Matveeva, Otten, 2019).

Таким образом, к началу 2021 года уже было известно 36 родов покрытосеменных растений, в пределах которых описаны природно-трансгенные виды. Среди них доминирующее положение занимают те, в составе клеточной Т-ДНК (клТ-ДНК) которых содержатся только гены синтеза опинов (табл. 1). Этот феномен можно объяснить как минимум тремя способами. Во-первых, в известных на данный момент Т-ДНК гены синтеза опинов первыми попадают в растительную клетку в ходе трансформации. В случае обрыва Т-ДНК в процессе ее переноса именно гены опин-синтаз попадают в клетку-реципиент. Во-вторых, можно ожидать наличие штаммов агробактерий, в Т-ДНК которых присутствуют только гены опин-синтаз и нет онкогенов, ответственных за рост опухолей. В-третьих, нельзя исключать возможность трансформации растений протяженной Т-ДНК и потерю большей ее части в ходе эволюции потомков природного трансформанта с сохранением только генов синтеза опинов (Matveeva, 2021).

На втором месте по численности расположились виды, содержащие протяженные фрагменты Т-ДНК с онкогенами и генами синтеза опинов. На последнем месте находятся клТ-ДНК, содержащие только онкогены (Matveeva, 2021).

Таблица 1. Список известных видов природных ГМО (пГМО) среди двудольных растений
Table 1. List of known natural GMO (nGMO) species among dicotyledon plants

Порядок/ Order	Семейство/ Family	Виды/ Species	Группы генов Т-ДНК/ T-DNA gene groups	Источник/ Reference
Malpighiales Juss. ex Bercht. & J. Presl.	Euphorbiaceae Juss.	<i>Euphorbia esula</i> L.	Гены опин-синтаз	(Matveeva, Otten, 2019)
	Salicaceae Mirb.	<i>Populus alba</i> L. × <i>Populus glandulosa</i> Moench	онкогены и гены опин-синтаз	(Matveeva, 2021)
Fabales Bromhead	Fabaceae Lindl.	<i>Arachis duranensis</i> Krapov. & W.C. Greg.	гены опин-синтаз	(Matveeva, Otten, 2019)
		<i>Arachis ipaensis</i> Krapov. & W.C. Greg.	гены опин-синтаз	(Matveeva, Otten, 2019)
		<i>Arachis monticola</i> Krapov. & Rigoni.	гены опин-синтаз	(Matveeva, Otten, 2019)
		<i>Arachis hypogaea</i> L.	гены опин-синтаз	(Matveeva, Otten, 2019)
		<i>Nissolia schottii</i> A. Gray	гены опин-синтаз	(Matveeva, Otten, 2019)
		<i>Eperua falcata</i> Aubl.	гены опин-синтаз	(Matveeva, 2021)
	Quillajaceae D. Don	<i>Quillaja saponaria</i> Molina	онкогены и гены опин-синтаз	(Matveeva, Otten, 2019)
Rosales Bercht. & J. Presl.	Cannabaceae Martinov	<i>Parasponia andersonii</i> Planch	онкогены и гены опин-синтаз	(Matveeva, Otten, 2019)
		<i>Trema orientalis</i> (L.) Blume	онкогены и гены опин-синтаз	(Matveeva, Otten, 2019)
		<i>Humulus lupulus</i> L.	гены опин-синтаз	(Matveeva, Otten, 2019)
Fagales Engl.	Juglandaceae DC. ex Perleb	<i>Juglans cathayensis</i> Dode	гены опин-синтаз	(Matveeva, Otten, 2019)
		<i>Juglans mandshurica</i> Maxim.	гены опин-синтаз	(Matveeva, Otten, 2019)
		<i>Juglans sigillata</i> Dode	гены опин-синтаз	(Matveeva, Otten, 2019)
Brassicales Bromhead	Brassicaceae Burnett	<i>Eutrema yunnanense</i> Franch.	гены опин-синтаз	(Matveeva, Otten, 2019)
Myrtales Juss. ex Bercht. & J. Presl.	Myrtaceae Juss.	<i>Psidium guajava</i> L.	гены опин-синтаз	(Matveeva, Otten, 2019)
		<i>Eugenia unifora</i> L.	онкогены и гены опин-синтаз	(Matveeva, Otten, 2019)
		<i>Eucalyptus cloeziana</i> F. Muell	гены опин-синтаз	(Matveeva, 2021)
Sapindales Dumortier	Meliaceae Juss.	<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.	онкогены и гены опин-синтаз	(Matveeva, Otten, 2019)
	Burseraceae Kunth.	<i>Boswellia sacra</i> Flueck.	онкогены	(Matveeva, 2021)
Caryophyllales Juss. ex Bercht. & J. Presl.	Caryophyllaceae Juss.	<i>Silene latifolia</i> Poir.	гены опин-синтаз	(Matveeva, Otten, 2019)
		<i>Silene noctiflora</i> L.	гены опин-синтаз	(Matveeva, 2021)
		<i>Dianthus caryophyllus</i> L.	гены опин-синтаз	(Matveeva, Otten, 2019)
	Molluginaceae Bartl.	<i>Pharnaceum exiguum</i> Adamson	гены опин-синтаз	(Matveeva, 2021)
Kewaceae Christenh.	<i>Kewa caespitosa</i> Christenh.	гены опин-синтаз	(Matveeva, 2021)	
Cornales Link	Nyssaceae Juss. ex Dumort.	<i>Nyssa sinensis</i> Oliv.	гены опин-синтаз	(Matveeva, 2021)

Порядок/ Order	Семейство/ Family	Виды/ Species	Группы генов Т-ДНК/ T-DNA gene groups	Источник/ Reference
Ericales Bercht. & J. Presl.	Ericaceae Juss.	<i>Vaccinium macrocarpon</i> Aiton	онкогены	(Matveeva, Otten, 2019)
		<i>Vaccinium corymbosum</i> L.	онкогены	(Matveeva, 2021)
	Ebenaceae Gürke	<i>Diospyros lotus</i> L. cv. Kunsenshi	онкогены и гены опин-синтаз	(Matveeva, 2021)
	Theaceae Mirb. ex Ker Gawl.	<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze	онкогены и гены опин-синтаз	(Matveeva, Otten, 2019)
Solanales Juss. ex Bercht. & J. Presl.	Convolvulaceae Juss.	<i>Cuscuta australis</i> R. Br.	гены опин-синтаз	(Matveeva, Otten, 2019)
		<i>Cuscuta campestris</i> Yunck.	гены опин-синтаз	(Matveeva, Otten, 2019)
		<i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam.	онкогены и гены опин-синтаз	(Matveeva, 2021; Matveeva, Otten, 2019)
		<i>Ipomoea trifida</i> L.	онкогены и гены опин-синтаз	(Matveeva, 2021; Matveeva, Otten, 2019)
	Solanaceae Juss.	виды рода <i>Nicotiana</i> L.	онкогены и гены опин-синтаз	(Matveeva, 2021)
Lamiales Bromhead	Plantaginaceae Juss.	виды рода <i>Linaria</i> Mill.	онкогены и гены опин-синтаз	(Matveeva, 2021)

Анализ последовательностей клТ-ДНК всех трех типов показывает, что часть генов в них остаются неповрежденными, в то время как другие мутируют (Matveeva, 2021). Больше интактных последовательностей сохранилось среди генов опин-синтаз (Matveeva, 2021). Если говорить об изучении функций генов клТ-ДНК пГМО, то наибольший успех был достигнут при исследовании именно генов опин-синтаз. В некоторых растениях удалось показать синтез опинов (Matveeva, Otten, 2021).

В 2019 году методами биоинформатики было найдено много экспрессирующихся генов опин-синтаз в пГМО (Matveeva, Otten, 2019). Их список представлен в таблице 2. Эта база не обновлялась с 2019 года. Данная работа посвящена актуализации списка генов опин-синтаз, экспрессирующихся в пГМО.

Материалы и методы

Аминокислотные последовательности опин-синтаз из агробактерий *Agrobacterium rhizogenes*¹ Conn (Sawada et al., 1993), *A. tumefaciens* Conn и *A. vitis* Ophel & Kerr и их гомологи из растений *Ipomoea* и *Nicotiana* (табл. 3) были использованы в качестве запросов для поиска новых последовательностей экспрессируемых генов опин-синтаз из клТ-ДНК в архиве компьютерных сборок экспериментально полученных последовательностей транскриптов (TSA, 2022) Национального центра биотехнологической информации (NCBI, 2022). Чтобы обнаружить новые последовательности клТ-ДНК, мы выполнили поиск по алгоритму TBLASTN с настройками по умолчанию (Matveeva, 2021).

¹ От редактора: в тексте сохранен авторский вариант синонимичных названий бактерий родов *Rhizobium* (Young et al., 2001) и *Allorhizobium* (Mousavi et al., 2016) *Agrobacterium rhizogenes*, *A. tumefaciens*, *A. vitis* / Editor's note: the author's version of the synonymous names of *Rhizobium* (Young et al., 2001) and *Allorhizobium* (Mousavi et al., 2014) genera of bacteria *Agrobacterium rhizogenes*, *A. tumefaciens*, *A. vitis* were retained in the text.

Таблица 2. Экспрессирующиеся гены опин-синтаз у пГМО

Table 2. Opine synthase genes expressed in nGMOs

Порядок/ Order	Семейство/ Family	Вид/ Species	Гены опин-синтаз/ Opine synthase genes
Fabales	Fabaceae	<i>Arachis hypogaea</i>	cus-like
		<i>Aeschynomene evenia</i>	mis-like
Rosales	Cannabaceae	<i>Humulus lupulus</i>	vis-like
Malpighiales	Salicaceae	<i>Salix purpurea</i> L.	mas1-like, nos-like, mas2-like
Cucurbitales Juss. ex Bercht. & J. Presl.	Cucurbitaceae Juss.	<i>Lufa aegyptiaca</i> Mill.	mas1-like, mas2-like
Fagales	Juglandaceae	<i>Cyclocarya paliurus</i> (Batalin) Iljinsk.	sus-like
Sapindales	Rutaceae Juss.	<i>Citrus maxima</i> (Burm.) Merr.	mas1-like, mas2-like
Caryophyllales	Caryophyllaceae	<i>Silene conica</i> L., <i>S. dioica</i> (L.) Clairv., <i>S. vulgaris</i> (Moench) Garcke, <i>S. undulate</i> Aiton, <i>S. sartorii</i> Boiss. & Heldr.	cus-like
		<i>Camellia sinensis</i>	sus-like, acs-like1, acs-like2
			acs-like
			cus-like
Ericales	Theaceae		sus-like
	Ebenaceae	<i>Diospyros lotus</i>	cus-like sus-like
Solanales	Convolvulaceae	<i>Cuscuta gronovii</i> Willd., <i>C. pentagona</i> Engelm., <i>C. suaveolens</i> Ser.	mis-like

Таблица 3. Последовательности запросов для поиска в NCBI генов опин-синтаз, экспрессирующихся в растениях

Table 3. Sequences for NCBI screening for opine synthase genes expressed in plants

Цель/ Goal	Белок/ Protein	Учётный номер/ Accession #	Организм/ Organism
Поиск экспрессирующихся генов опин-синтаз/ Search for opine synthase genes expressed in plants	Nos	CAB44644.1	<i>A. tumefaciens</i> C58
	Mis	NP_066601 WP_010900210.1	<i>A. rhizogenes</i> 1724 <i>Nicotiana glauca</i> Graham
	Ags	ASK40986.1	<i>A. rhizogenes</i> CBFP2692
	Mas2'	AIM40180.1	<i>Nicotiana tomentosiformis</i> L. (TB)
	Acs	AAK20401.1	<i>A. tumefaciens</i> Chry5
	Sus	ARU12438.1	<i>A. tumefaciens</i> Chry5
	Ocs	NP_059680.1	<i>A. tumefaciens</i> Ach5
	Vis	WP_080855286.1	<i>A. deltaense</i> sp. nov. (Yan et al., 2017)
	Cus	BAB13344.1	<i>A. rhizogenes</i> 2659
Изучение возможного заражения видов растений-кандидатов агробактериями/ Study of possible infection of candidate plant species with agrobacteria	VirB1	WP_080855255.1 ACM39672.1 NP_066734.1 YP_001967531.1	<i>A. deltaense</i> sp. nov. (Yan et al., 2017); <i>A. vitis</i> S4 <i>A. rhizogenes</i> 1724 <i>A. tumefaciens</i> Bo542
	VirB2	NP_066735.1 ACM39671.1 BAA28696.1	<i>A. rhizogenes</i> 1724 <i>A. vitis</i> S4 <i>A. tumefaciens</i>
	VirD2	YP_001967546.1 WP_032488282.1 ACM39658.1	<i>A. tumefaciens</i> Bo542 <i>A. rhizogenes</i> 15834 <i>A. vitis</i> S4
	VirE2	AAA98372.1 GAJ95556 ACM39679.1	<i>A. tumefaciens</i> C58 <i>A. rhizogenes</i> 13257 <i>A. vitis</i> S4

Результаты и обсуждение

В результате поиска в базе TSA NCBI (TSA, 2022; NCBI, 2022) среди транскриптомов двудольных растений нами были обнаружены экспрессирующиеся последовательности генов опин-синтаз, (табл. 4). Наличие экспрессии генов свидетельствует о том, что они выполняют в растении какие-то функции, которые предстоит изучить.

Транскриптомные данные видов были проверены на предмет наличия *vir*-генов. Эти гены характерны для агробактерий и консервативны, но они не передаются растениям в ходе трансформации. Если бы в данных TSA (TSA, 2022) наряду с генами опин-синтаз мы нашли последовательности *vir*-генов, это могло бы указывать на присутствие агробактериального загрязнения материала. В нашем исследовании ни у одного из видов в транскриптомах не было найдено последовательностей *vir*-генов, следовательно, это природно-трансгенные растения, в которые интегрированы гены агробактериальной Т-ДНК.

Таким образом, нами описано 13 новых видов природных ГМО, содержащих и экспрессирующих гены опин-синтаз: *Albizia julibrissin* Durazz., *Cenostigma pyramidale* (Tul.) Gagnon & G.P. Lewis, *Averrhoa carambola* L., *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino, *Eurycoma longifolia* Jack, *Gypsophila paniculata* L., *Myosoton aquaticum* (L.) Moench, *Camptotheca acuminata* Decne., *Gustavia superba* (Kunth) O. Berg, *Eschweilera coriacea* (DC.) S.A. Mori, *Cestrum elegans* (Brongn. ex Neumann) Schltdl., *Jasminum sambac* (L.) Aiton, *Paulownia tomentosa* Steud.

Нами показано, что изучаемые гены экспрессируются у растений родов: *Arachis* L., *Juglans* L., *Psidium* L., *Cuscuta* L., ранее известных как пГМО.

Выявленные пГМО с экспрессирующимися генами опин-синтаз относятся к II порядкум покрытосеменных двудольных растений, что согласуется с ранее полученными данными о том, что пГМО встречаются в разных таксонах двудольных без четкой приуроченности к каким-либо конкретным группам.

Таблица 4. Новые гены опин-синтаз, экспрессирующиеся в пГМО

Table 4. New opine synthase genes expressed in nGMOs

Порядок/ Order	Семейство/ Family	Вид/ Species	Экспрессия генов/ Expression of genes	Номер в базе NCBI/ NCBI Accession number
Fabales	Fabaceae	<i>Arachis glabrata</i> Benth.*	<i>cus</i> -like	GJAB01066626.1
			<i>cus</i> -like	GJAB01061014.1
		<i>Albizia julibrissin</i> Durazz. isolate EK601	<i>vis</i> -like	GHWM01098463.1
			<i>mas2</i> -like	GHWM01151614.1
		<i>Cenostigma pyramidale</i> cultivar wild TR311231	<i>vis/ocs</i> -like	GIYP01561462.1
Oxalidales Bercht. & J. Presl	Oxalidaceae R.Br.	<i>Averrhoa carambola</i> L.	<i>sus</i>	GJAU01029991.1
Cucurbitales	Cucurbitaceae	<i>Gynostemma pentaphyllum</i>	<i>mas2</i>	GHVI01017872.1
Fagales	Juglandaceae	<i>Juglans mandshurica</i> *	<i>sus</i> -like	GJIQ01013167.1
Myrtales	Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i> *	<i>mas1</i> -like	GGPP01224677.1
Sapindales	Simaroubaceae DC.	<i>Eurycoma longifolia</i> isolate TA	<i>acs</i> -like	GIY01012481.1
Caryophyllales	Caryophyllaceae	<i>Gypsophila paniculata</i> L.	<i>cus</i> -like	GILV01442654.1
		<i>Myosoton aquaticum</i>	<i>cus</i> -like	GGTY01082339.1
Cornales	Nyssaceae	<i>Camptotheca acuminata</i> Decne.	<i>acs</i> -like	GACF01116648.1
Ericales	Lecythidaceae A.Rich.	<i>Gustavia superba</i> isolate 83198	<i>mas1</i> -like	GHLF01017064.1
		<i>Eschweilera coriacea</i> isolate tree P6-4-421	<i>mas1</i> -like	GHLP01090495.1
Solanales	Convolvulaceae	<i>Cuscuta denticulata</i> Engelm.*	<i>mis</i> -like	GHUS01082292.1
		<i>Cuscuta nevadensis</i> I.M. Johnst.*	<i>mis</i> -like	GHUT01063207.1
	Solanaceae	<i>Cestrum elegans</i>	<i>cus</i> -like	GHMO01115776.1

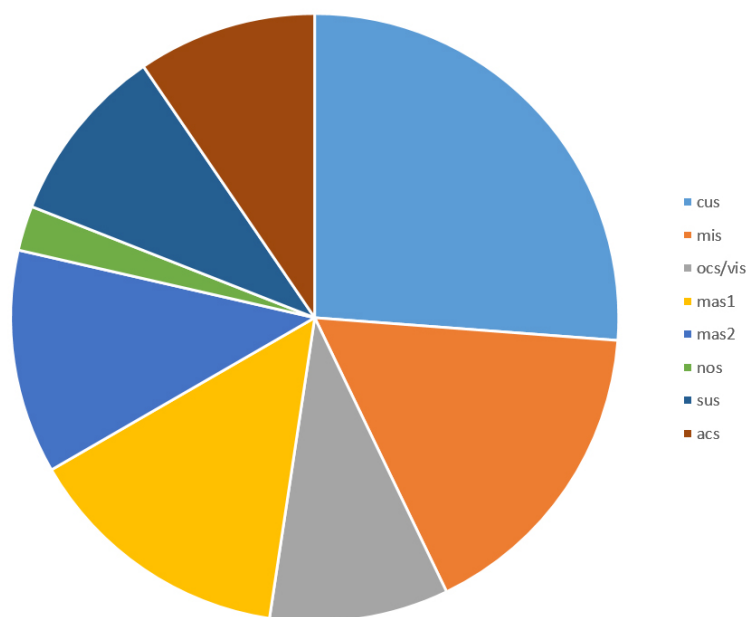
Порядок/ Order	Семейство/ Family	Вид/ Species	Экспрессия генов/ Expression of genes	Номер в базе NCBI/ NCBI Accession number
Lamiales	Oleaceae	<i>Jasminum sambac</i>	<i>sus</i> -like	GHOY01160129.1
	Paulowniaceae	<i>Paulownia tomentosa</i>	<i>ocs/vis</i> -like	GEFV01009460.1

Примечание:

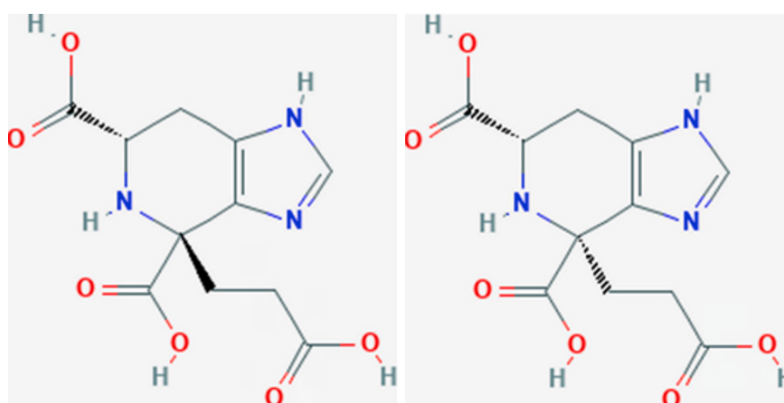
* – представители родов и видов растений, ранее охарактеризованные как пГМО;
 без специальных пометок – представители родов, в пределах которых пГМО ранее обнаружено не было.

Footnote:

* – representatives of genera and plant species previously described as nGMO;
 without special marking – representatives of genera within which no nGMO have been previously detected



A



B

Рисунок. Соотношение видов природных ГМО с различными экспрессирующимися генами опин-синтаз (A) и структуры наиболее распространенных у природных ГМО опинов (B): микимопина (слева) и кукумопина (справа)

Figure. Ratio of natural GMO species with different expressed genes of opine synthases (A) and structures of the most common opiines in natural GMOs (B): mykimopine (left) and cucumopine (right)

Среди известных из литературы и описанных нами видов пГМО преобладают те, что обладают *cis*-подобными последовательностями ДНК (см. табл. 4). На втором месте находятся *mis*-подобные гены. Кодируемые этими генами опины являются изомерами. Эта группа опинов требует внимания для последующего исследования функций горизонтально перенесенных генов от агробактерий к растениям.

Заключение

Таким образом, наиболее распространенными генами Т-ДНК пГМО являются гены опин-синтаз. В дополнение к списку 2019 года выявлено 18 видов природных ГМО с экспрессирующимися генами опин-синтаз. Найдено 13 новых видов пГМО: *Albizia julibrissin*, *Cenostigma pyramidale*, *Averrhoa carambola*, *Gynostemma pentaphyllum*, *Eurycoma longifolia*, *Gypsophila paniculata*, *Myosoton aquaticum*, *Camptotheca acuminata*, *Gustavia superba*, *Eschweilera coriacea*, *Cestrum elegans*, *Jasminum sambac*, *Paulownia tomentosa*. Наиболее распространенные экспрессирующиеся опин-синтазы – это гомологи микмопин- и кукумопин-синтаз.

References/ Литература

- Chilton MD. Agrobacterium Ti plasmids as a tool for genetic engineering in plants. In: Rains D.W., Valentine R.C., Hollaender A. [eds.] Genetic engineering of osmoregulation, Basic life sciences. V.14. New York: Plenum Press; 1980, p.23-31. DOI: 10.1007/978-1-4684-3725-6_3
- Gleba Yu.Yu. Biotechnology of plants. *Soros Educational Journal*. 1998;6:3-8. [In Russian] (Глеба Ю.Ю. Биотехнология растений. *Соровский образовательный журнал*. 1998;6:3-8).
- Kyndt T, Quispe D, Zhai H, Jarret R., Ghislain M., Liu Q., Gheysen G., Kreuze J.F. The genome of cultivated sweet potato contains *Agrobacterium* T-DNAs with expressed genes: an example of a naturally transgenic food crop. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015;112(18):5844-5849. DOI: 10.1073/pnas.1419685112
- Lutova L.A. Plant biotechnology: accomplishments and hopes. *Soros Educational Journal*, 2000;6(10):10-17. [In Russian] (Лутова Л.А. Биотехнология растений: свершения и надежды. *Соровский образовательный журнал*. 2000;6(10):10-17).
- Matveeva TV, Otten L. Opine biosynthesis in naturally transgenic plants: Genes and products. *Phytochemistry*. 2021;189:112813. DOI: 10.1016/j.phytochem.2021.112813
- Matveeva T.V. Why do plants need agrobacterial genes? *Ecological Genetics*. 2021;19(4):365-375. DOI: 10.17816/ecogen89905, Available from: https://journals.eco-vector.com/ecolgenet/article/view/89905/pdf_1 [accessed May 01, 2022]
- Matveeva T.V. New naturally transgenic plants: 2020 update. *Biological Communications*. 2021;66 (1):36-46. DOI: 10.21638/spbu03.2021.105
- Matveeva T.V., Otten L. Widespread occurrence of natural genetic transformation of plants by *Agrobacterium*. *Plant Molecular Biology*. 2019;101:415-437. DOI: 10.1007/s11103-019-00913-y
- Matveeva T.V., Sokornova S.V. Biological traits of naturally transgenic plants and their evolutionary roles. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2017;64:635-648. DOI: 10.1134/S1021443717050089
- Mousavi S.A., Österman J., Wahlberg N., Nesme X., Lavire C., Vial L., Paulin L., de Lajudie P., Lindström K. Phylogeny of the *Rhizobium-Allorhizobium-Agrobacterium* clade supports the delineation of *Neorhizobium* gen. nov. *Systematic and Applied Microbiology*. 2014;37(3):208-215. DOI: 10.1016/j.syapm.2013.12.007
- NCBI, *National Center for Biotechnology Information*. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov> [accessed May 01, 2022]
- Nester E.W. *Agrobacterium*: nature's genetic engineer. *Frontiers in Plant Science*. 2014;5:730. DOI: 10.3389/fpls.2014.00730
- Sawada H., Ieki H., Oyaizu H., Matsumoto S. Proposal for rejection of *Agrobacterium tumefaciens* and revised descriptions for the genus *Agrobacterium* and for *Agrobacterium radiobacter* and *Agrobacterium rhizogenes*. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1993;43(4):694-702.
- TSA, *Transcriptome Shotgun Assembly Sequence Database*. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/tsa> [accessed May 01, 2022]
- Vladimirov I.A., Matveeva T.V., Lutova L.A. Opine biosynthesis and catabolism genes of *Agrobacterium tumefaciens* and *Agrobacterium rhizogenes*. *Russian Journal of Genetics*. 2015;51(2):121-129. DOI: 10.1134/S1022795415020167
- White F.F., Garfinkel D.J., Huffman G.A., Gordon M.T., Nester E.W. Sequences homologous to *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA in the genomes of uninfected plants. *Nature*. 1983;3012:348-350. DOI: 10.1038/301348a0
- Yan J., Li Y., Han X.Z., Chen W.F., Zou W.X., Xie Z., Li M. *Agrobacterium deltaense* sp. nov., an endophytic bacteria isolated from nodule of *Sesbania cannabina*. *Archives of Microbiology*. 2017;199(7):1003-1009. DOI: 10.1007/s00203-017-1367-0
- Young J.M., Kuykendall L.D., Martinez-Romero E., Kerr A., Sawada H. A revision of *Rhizobium* Frank 1889, with an emended description of the genus, and the inclusion of all species of *Agrobacterium* Conn 1942 and *Allorhizobium undicola* de Lajudie et al. 1998 as new combinations: *Rhizobium radiobacter*, *R. rhizogenes*, *R. rubi*, *R. undicola*, and *R. vitis*. *International Journal of Systematics and Evolutionary Microbiology*. 2001;51(1):89-103. doi: 10.1099/00207713-51-1-89.

Информация об авторах

Федор Денисович Богомаз, ученик 10 А класса, лицей 281 Адмиралтейского района, Советский переулок, дом 4 Лит. А, Санкт-Петербург, 190005, Россия, pickayut2006@gmail.com

Татьяна Валерьевна Матвеева, доктор биологических наук, профессор, кафедра генетики и биотехнологии, биологический факультет, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034 Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9, radishlet@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8569-6665>

Information about the authors

Fedor Denisovich Bogomaz, 10 "A" grade student, Lyceum 281 of the Admiralteisky District, Sovetsky Lane, Bldg. 4, Lit. A, St. Petersburg, 190005, Russia, pickayut2006@gmail.com

Tatiana Valeryevna Matveeva, Dr. Sci. (Biology), Professor, Department of Genetics and Biotechnology, Faculty of Biology, St. Petersburg State University, 7/9, Universitetskaya Embankment, St. Petersburg, 199034 Russia, radishlet@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8569-6665>

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 10.07.2022; одобрена после рецензирования 09.09.2022;
принята к публикации 27.09.2022.

The article was submitted on 10.07.2022; approved after reviewing on 27.08.2022; accepted for publication on 27.09.2022.

Научная статья
УДК 633.368:57.085.23
DOI: 10.30901/2658-6266-2022-3-04



Способность к каллусообразованию у арахиса культурного (*Arachis hypogaea* L.)

В. Д. Бемова¹, Л. Г. Макарова¹, Е. О. Гурина¹, В. А. Гаврилова¹, Т. В. Матвеева²

¹Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургский государственный университет (СПбГУ), Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Татьяна Валерьевна Матвеева, radishlet@gmail.com; Вера Алексеевна Гаврилова, v.gavrilova@vir.nw.ru

Актуальность. Россия входит в число крупнейших стран-покупателей арахиса. В то же время на юге страны ряд зон соответствует требованиям для возделывания этой культуры. Повышение урожайности существующих сортов арахиса возможно с использованием современных методов биотехнологии, в частности агробактериальной трансформации. Из литературных данных известно, что разные генотипы арахиса и экспланты из разных источников по-разному реагируют на регенерацию *in vitro*. Успешное каллусообразование зависит от правильного протокола, включающего состав сред, способствующих росту и индукции *in vitro*. **Материал и методы:** в работе использовали восемь образцов арахиса из коллекции ВИР различного происхождения. Зародышевые экспланты выращивали на среде Мурасиге-Скуга с добавлением гормона 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д). **Цель работы:** получить образование каллуса из клеток зародыша арахиса и выявить генотипы, лучшим образом продуцирующие каллусообразование. **Результаты и обсуждение:** в результате оценки способности образовывать каллусы из зародышей арахиса при выращивании на среде Мурасиге-Скуга с гормоном 2,4-Д в концентрации 2 г/л выявлены различия в способности к каллусообразованию у разных образцов. Образцы под номерами каталога к-793, к-2054 и к-2055 не образовали каллусы. Образцы к-698 и к-1987 показали наибольший процент образования каллусов из зародышевых эксплантов.

Ключевые слова: зародышевые экспланты, регенерация, *in vitro*, 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота

Благодарности: Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках проекта №075-15-2020-922 от 16.11.2020

Для цитирования: Бемова В.Д., Макарова Л.Г., Гурина Е.О., Гаврилова В.А., Матвеева Т.В. Оценка способности каллусообразования у арахиса. *Биотехнология и селекция растений*. 2022;5(3):25-32. DOI: 10.30901/2658-6266-2022-3-04

Прозрачность финансовой деятельности. Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы. Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы.

© Бемова В.Д., Макарова Л.Г., Гурина Е.О., Гаврилова В.А., Матвеева Т.В., 2022

Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2022-3-04

Callus formation ability in cultivated peanuts (*Arachis hypogaea* L.)

Viktoriya D. Bemova¹, Larisa G. Makarova¹, Elena O. Gurina¹, Vera A. Gavrilova¹, Tatyana V. Matveeva²¹N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia²St. Petersburg State University (SPbSU), St. Petersburg, Russia**Corresponding author:** Tatyana V. Matveeva, radishlet@gmail.com; Vera A. Gavrilova, v.gavrilova@vir.nw.ru

Background: Russia is one of the largest peanut importing countries. At the same time, in the south of the country, several zones meet the requirements for peanut cultivation. It is possible to increase the yield of the existing peanut varieties by using modern biotechnology methods, in particular agrobacterial transformation. It is known from the literature data that different peanut genotypes and explants from various sources react differently to *in vitro* regeneration. Successful regeneration depends on the correct protocol, including both the type of regeneration and the composition of media promoting growth and *in vitro* induction. **Objectives:** a technique for obtaining peanut regenerants in *in vitro* culture. **Materials and methods:** Eight peanut accessions from the VIR collection of different origin were used in the work. Embryonic explants were grown on Murashige-Skoog medium supplemented with the hormone 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). **Results and conclusions:** As a result of assessing the regenerative ability of peanuts grown on Murashige-Skoog medium with the hormone 2,4-D at a concentration of 2 g/L, differences in the callus formation ability were revealed in different accessions. Those with catalog numbers k-793, k-2054 and k-2055 did not form organogenic calli, while accessions k-698 and k-1987 showed the highest percentage of callus formation from embryonic explants.

Key words: embryonic explants, regeneration, *in vitro*, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid

Acknowledgements: The research was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in accordance with Agreement №075-15-2020-922 dated 16.11.2020

For citation: Bemova V.D., Makarova L.G., Gurina E.O., Gavrilova V.A., Matveeva T.V. Callus formation ability in cultivated peanuts (*Arachis hypogaea* L.). *Plant Biotechnology and Breeding*. 2022;5(3):25-32. DOI: 10.30901/2658-6266-2022-3-04

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. The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employers.

© Bemova V.D., Makarova L.G., Gurina E.O., Gavrilova V.A., Matveeva T.V., 2022

Введение

Арахис (*Arachis hypogaea* L.) – культура, выращиваемая во всем мире, источник растительного белка и масла. Во многих странах арахис относится к числу основных масличных культур и вносит значительный вклад в продовольственную безопасность. Семена арахиса содержат 40-60% масла и 20-37% белка и широко используются в кондитерской промышленности при производстве конфет, шоколада, халвы и другой продукции. В России эту культуру импортируют до 100 тысяч тонн в год (Tuz, 2018). Существует возможность возделывания арахиса на юге России (Kishlyan et al., 2020). Для решения проблемы получения высокоустойчивых сортов к биотическим и абиотическим факторам среды в настоящее время арахис широко вовлекается в геномные исследования, включая методы геной инженерии. Технологии редактирования генома и трансформации генов обеспечивают генетическое улучшение. Арахис обладает способностью усвоить азот из почвы за счет азотфиксирующих бактерий. Один из способов повышения урожайности – увеличение азотфиксации.

Успешное создание трансгенных растений арахиса зависит от протоколов регенерации и генетической трансформации *in vitro*. Необходимо учитывать генотипически обусловленные различия в способности арахиса

регенерировать в культуре *in vitro*. Работы по регенерации растений из культивируемых соматических тканей арахиса появились в начале 1980-х годов (Mroginski et al., 1981; Pittman, 1983). Для регенерации использовали молодые листочки проростков арахиса 3-5-дневного возраста (получены в асептической культуре из семян). На данный момент существуют исследования о получении эксплантов арахиса из различных источников, в том числе из семядольного узла (Marka et al, 2018), незрелых листьев (Mehta et al., 2013; Anuradha et al., 2008), мезокотила (Chen et al., 2015) и зародышевых осей (Geng et al., 2012; Rohini, Rao, 2000). Несмотря на то, что арахис считается трудной культурой для культивирования тканей, в настоящее время показано, что генетическая трансформация с помощью *Agrobacterium*¹ возможна при использовании различных источников эксплантов арахиса (Lamborg et al., 2021). Перед проведением трансформации необходимо создать культуру клеток *in vitro*.

Материал и методы

Для проведения опыта были выбраны восемь образцов арахиса коллекции ВИР различного происхождения. Список представлен в таблице 1. Использованы семена репродукции 2019 года, выращенные на Кубанской опытной станции – филиале ВИР.

Таблица 1. Список образцов, использованных для оценки их способности к каллусообразованию

Table 1. List of accessions used to assess their callus forming capability

№/ No	№ по каталогу ВИР/ VIR catalogue No.	Название/ Name	Происхождение/ origin
1	555	-	Индия
2	597	‘Early Spanish’	Канада
3	698	Sel.C.R.A. Issue de Куба 15237	Марокко
4	793	‘Десертныйэ	Россия
5	939	‘Tatiki’	Бразилия
6	1987	‘Отрадокубанский’	Россия
7	2054	№19940	ВНИИМК
8	2055	№19828	ВНИИМК

Приготовление питательной среды для изучения способности каллусообразования у арахиса. Были использованы:

- Сухая смесь Сигма с макро-микроэлементами-витаминами – 4,4 г/л
- Сахароза – 20 г/л
- Агар – 7 г/л

Сухая смесь Сигма, приготовленная по рецепту Мурасиге-Скуга (Murashige, Skoog, 1962), включала: KNO_3 , NH_4NO_3 , $CaCl_2$, $MgSO_4 \times 7H_2O$, H_2PO_4 , Мезоинозит, Сахароза, Микросоли (сток) (H_3BO_3 , $MnSO_4$, $ZnSO_4$, $CuSO_4$, $CoCl_2$, KJ , $NaMoO_4 \times 2H_2O$), Fe-Хелат (сток) ($FeSO_4 \times 7H_2O$, $Na_2EDTA \times 2H_2O$), Витамины: никотиновая кислота (PP), пиродоксин (B_6), тиамин (B_1). Кислотность

¹ От редактора: в тексте сохранен авторский вариант синонимичного названия бактерий рода *Rhizobium* Frank 1889 (emend. Young et al., 2001), а именно *Agrobacterium* Conn 1942 (emend. Sawada et al. 1993).

Editor's note: the author's version of the synonymous name of *Rhizobium* Frank 1889 (emend. Young et al., 2001), namely *Agrobacterium* Conn 1942 (emend. Sawada et al. 1993) genus of bacteria was retained in the text.

среды pH = 5,6 достигали с помощью 1N KOH или HCL.

Процесс приготовления. В 1000 мл дистиллированной воды растворяли сухую смесь Сигма (4,4 г/л) и сахарозу (20 г/л). Доводили кислотность раствора до pH = 5,8. Затем добавляли агар из расчета 7 г/л. Для проведения опыта был добавлен гормон 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота – 2 г/л).

Затем проводили автоклавирование при температуре 121°C в течение 20 минут в условиях медленного нагрева и остывания.

Подготовка семян арахиса для изучения каллусообразования. Бобы арахиса дезинфицировали в течение 10 минут в 37% водном растворе перекиси водорода, после чего производили извлечение семян. Далее, семена опускали в 37% раствор перекиси водорода на 3 минуты, затем промывали в автоклавированной воде 10 минут. Обработанные таким образом семена с помощью скальпеля разделяли на семядоли и вычленили зародыш

(рис. 1). Всего для работы было выделено 120 зародышей, по 15 для каждого образца. Каждый зародыш помещали в чашку Петри на среду Мурасиге-Скуга, содержащей гормон 2,4-Д в концентрации 2 г/л.

Согласно ранее проведенным исследованиям, концентрация гормона 2,4-Д в диапазоне от 2 до 3 г/л является оптимальной для индуцирования каллусообразования у зародышей арахиса, независимо от типа эксплантата или светового режима (Baker et al., 1995).

Чашки Петри с высаженными зародышами содержали при температуре +24°C и круглосуточном освещении. Через 20 дней были отобраны зародыши с наилучшим каллусообразованием, которые затем были перенесены на питательную среду без гормона.

Измерения размеров каллусов проводили сразу после посадки на среду. В последующем вели наблюдение за ростом каллуса у зародышей и фиксировали стадии этого процесса на фото каждые 10 дней.

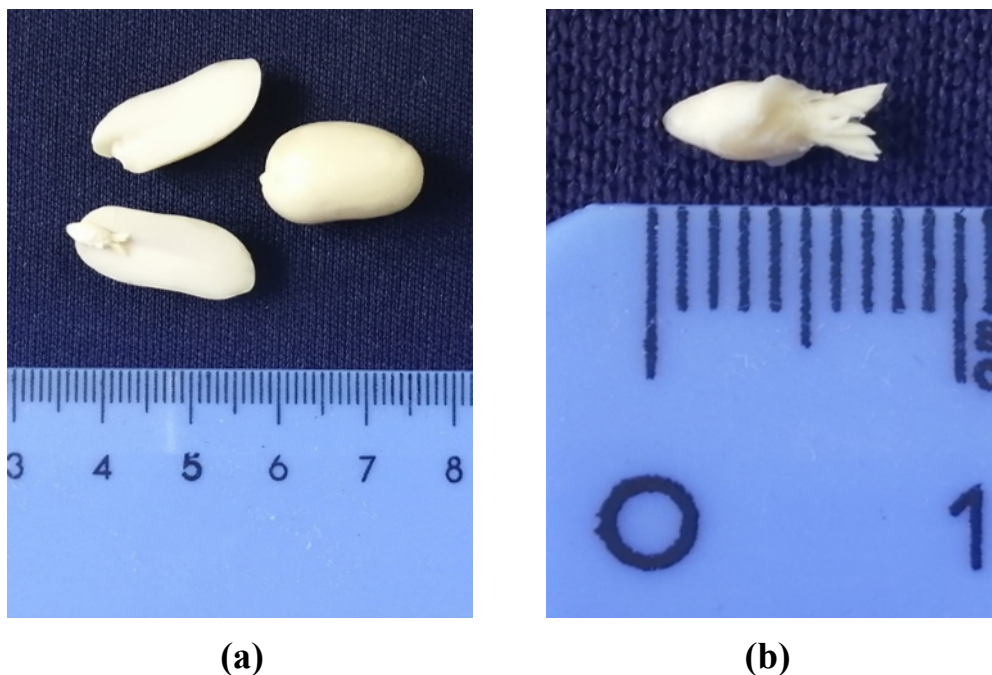


Рис. 1. Разрезанное семя арахиса (а) и извлеченный зародыш (b)

Fig. 1. Cut peanut seed (a) and extracted germ (b)

Результаты и обсуждение

Наилучшая регенерационная способность отмечена у образцов к-698 из Марокко (70% зародышей образовали каллусы) и к-1987 сорт 'Отрадокубанский' из России (100% зародышей образовали каллусы) (рис. 2). Эти образцы и будут использованы в дальнейшей работе для

проведения трансформации и получения трансгенных растений.

Был проведен дисперсионный анализ с целью установить статистические различия между образцами по проценту каллусообразования (табл. 2). В результате, так как значение P меньше $\alpha = 0,05$, можно заключить, что между образцами есть существенная разница.

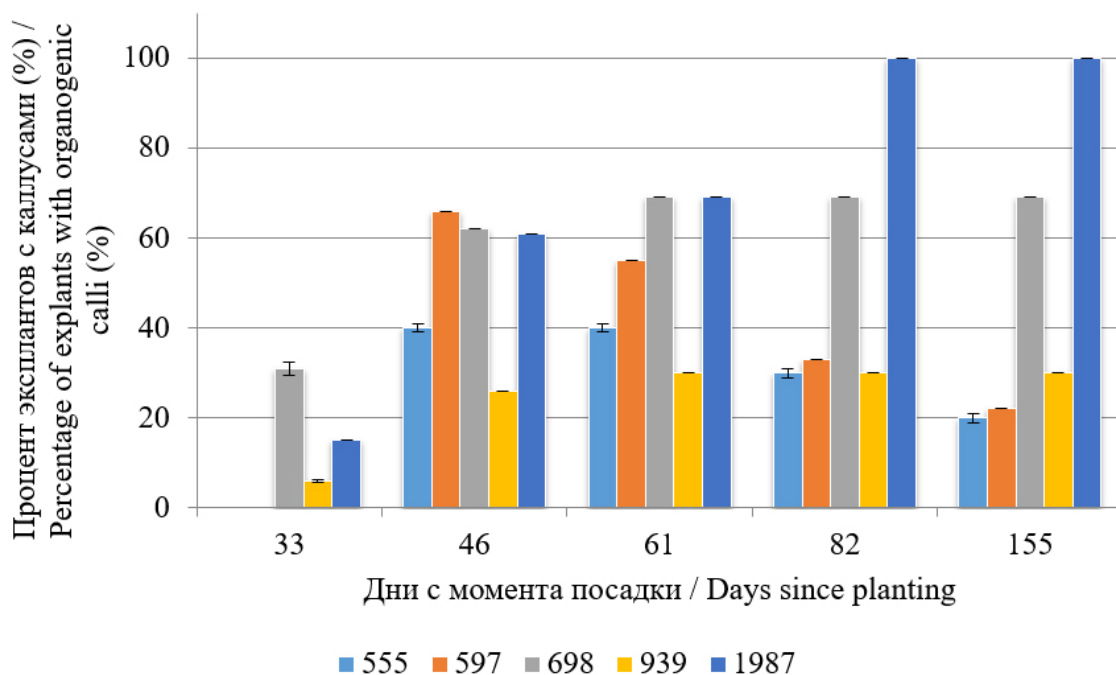


Рис. 2. Динамика образования каллусов на зародышевых эксплантах арахиса

Fig. 2. Dynamics of callus formation in peanut germ explants

Таблица 2. Дисперсионный анализ влияния генотипа образца на каллусообразование

Table 2. Analysis of variance of the accession genotype influence on the callus formation

Источник вариации/ Source of Variation	SS	df	MS	F	P	F критическое
Между группами/ Between groups	8303,840	4	2075,960	4,029	0,014	2,866
Внутри групп/ Within groups	10304	20	515,2			
Итого/ Total	18607,840	24				

Примечание: SS – сумма квадратов, Df – степени свободы, MS – средняя сумма квадратов, P – уровень значимости, F – эмпирический критерий Фишера

В ходе работы измеряли длину зародышей и диаметр каллусов (табл. 3). Размер зародышей в начале культивирования составлял в среднем 5 мм. В течение семи дней после посадки зародышей на питательную среду происходило их постепенное увеличение. Через 20 дней зародыши наиболее крупного размера, начавшие образовывать каллус, были перенесены на среду без гормона. Наибольшее увеличение размера каллусов происходило в период с 26-го по 33-й день после посадки

(см. табл. 3). Зародыши большинства образцов демонстрировали образование каллуса, а у сорта 'Отрадокубанский' наблюдали появление также и маленьких зеленых листьев (рис. 3а). У образцов под номерами к-555, к-597 и к-939 существенного увеличения размеров после образования каллусов не наблюдалось, в то время как к-698 (рис. 3b) и к-1987 (см. рис. 3а) демонстрировали рост во время всего периода наблюдения. Образцы к-793, к-2054 и к-2055 не образовали каллусов.

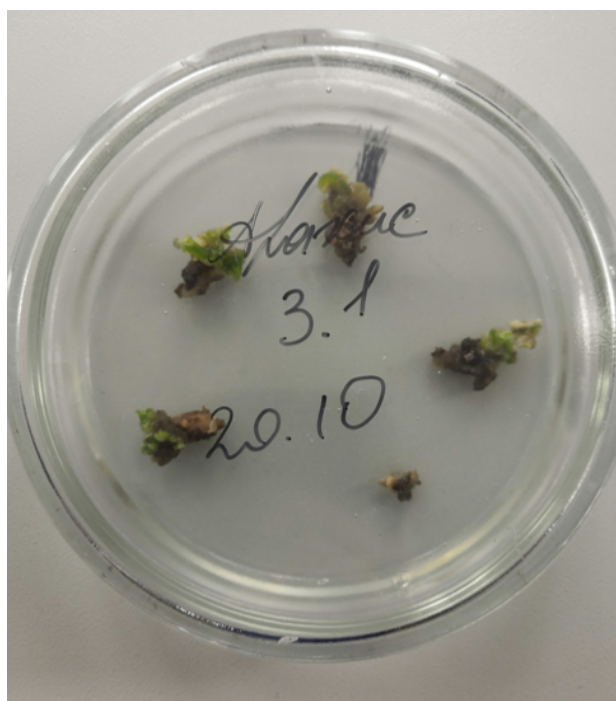
Таблица 3. Динамика изменения среднего диаметра каллуса у образцов арахиса на разных сроках (мм)

Table 3. Dynamics of mean callus diameter change in peanut samples on different dates (mm)

№ по каталогу ВИР/ VIR catalogue No	Дни с момента посадки/ Days since planting					
	26	33	46	61	82	155
	Средний диаметр каллуса (мм)/ Mean callus diameter (mm)					
555	8,0	9,0	10,0	10,0	10,1	10,1
597	7,0	9,2	9,2	9,2	9,3	9,3
698	8,0	12,1	12,2	13,0	13,2	13,4
939	8,0	8,9	9,0	9,0	9,0	9,0
1987	8,0	11,7	12,2	13,1	13,8	14,5



(a)



(b)

Рис. 3. Образование каллуса на зародышах арахиса
Образцы: (a) – к-1987; (б) – к-698

Fig. 3. Callus formation in peanut germs
Accessions: (a) – к-1987, (b) – к-698

Для оценки влияния генотипа образцов на размер каллусов был проведен дисперсионный анализ (табл. 4). Согласно его результатам, существенной разницы между образцами нет.

Проведенные исследования показывают, что возможность получения каллусов из зародышевых эксплантов арахиса зависит от генотипа используемых образцов, что соответствует результатам опытов других экспериментаторов (Baker et al., 1995; Joshi et al., 2003). Способность

к регенерации может сильно варьировать. Так в наших исследованиях из восьми образцов три (к-793, к-2054, к-2055) не образовали каллус, к-698 и к-1987 показали высокий процент каллусообразования, а остальные продемонстрировали средние результаты. Образцы к-698 и к-1987 целесообразно использовать в дальнейшей работе по оптимизации протокола получения каллуса из клеток зародыша арахиса. Статистически достоверных доказательств в пользу влияния генотипа образца на размер

Таблица 4. Дисперсионный анализ влияния генотипа образца на размер каллуса

Table 4. Analysis of variance of the accession genotype influence on the callus size

Источник вариации/ Source of Variation	SS	df	MS	F	P	F критическое
Между группами/ Between groups	50,082	4	12,520	1,860	0,136	2,605
Внутри групп/ Within groups	269,188	40	6,729			
Итого/ Total	319,271	44				

Примечание: SS – сумма квадратов, Df – степени свободы, MS – средняя сумма квадратов, P – уровень значимости, F – эмпирический критерий Фишера

образуемых каллусов в наших экспериментах получено не было.

Гормон 2,4-Д в концентрации 2 г/л успешно индуцировал образование каллусов у некоторых образцов, наиболее активный рост которых пришёлся на период с 26-го по 33-й день с момента посадки на питательную среду с 2,4-Д и, соответственно, с шестого по тринадцатый день после пересадки на среду без содержания гормона. Несмотря на то, что есть сообщения о высокой вероятности регенерации корней при использовании 2,4-Д (Lamboro et al., 2022), в ходе проводимых нами экспериментов это не подтвердилось.

Выводы

Выращивание зародышей арахиса на среде Мурашиге-Скуга с добавлением гормона 2,4-Д в концентрации 2 г/л способствует успешному образованию каллусов. Процент образования каллусов на зародышевых эксплантах зависит от генотипа и может сильно варьировать у разных образцов. Лучшая способность к каллусообразованию на стадии выделенных зародышей отмечена у образцов арахиса коллекции ВИР к-698 (Марокко) и к-1987 (‘Отрадокубанский’, Россия).

References / Литература

Anuradha T.S., Divya K., Jami S.K., Kirti P.B. Transgenic tobacco and peanut plants expressing a mustard defending show resistance to fungal pathogens. *Plant Cell Reports*. 2008;27:1777-1786. DOI: 10.1007/s00299-008-0596-8

Baker C.M., Durham R.E., Burns J.A., Parrott W.A., Wetzstein H.Y. High frequency somatic embryogenesis in peanut (*Arachis hypogaea* L.) using mature, dry seed. *Plant Cell Reports*. 1995;15:38-42. DOI: 10.1007/BF01690250

Chen M., Yang Q., Wang T., Chen N., Pan L., Chi X., Yang Z., Wang M., Yu S. *Agrobacterium* mediated genetic transformation of peanut and the efficient recovery of transgenic plants. *Canadian Journal of Plant Science*. 2015;95:735-744. DOI: 10.4141/CJPS-2014-012

Geng L., Niu L., Gresshoff P.M., Shu C., Song F., Huang D., Zhang J. Efficient production of *Agrobacterium rhizogenes*-transformed roots and composite plants in peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Plant Cell Tissue Organ Culture*. 2012;109:491-500. DOI: 10.1007/s11240-012-0113-1

Joshi M.V., Sahasrabudhe N.A., Hazra S. Responses of peanut somatic

embryos to thidiazuron. *Biologia Plantarum*. 2003;46:187-192. DOI: 10.1023/A:1022886107591

Kishlyan N.V., Bemova V.D., Matveeva T.V., Gavrilova V.A. Biological peculiarities and cultivation of groundnut (a review). *Proceedings on applied botany, genetics and breeding*. 2020;181(1):25-32. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-1-119-127

Lamboro A., Han X., Yang S., Li X., Yao D., Moussa A.A., Chaudhry M.R., Ilboudo H., Song B., Wu Q., Xing Y., Zhang J. High-frequency direct organogenesis from cotyledonary node explants and plantlet regeneration of peanut (*Arachis hypogaea*) cultivars. *International Journal of Agriculture & Biology*. 2022;27:105-114. DOI: 10.17957/IJAB/15.1906

Lamboro A., Song B., Songnan Y., Han X., Mingguo H., Li X., Yao D., Zhang J. Genetic engineering and genome editing techniques in peanut plants. *Plant Science Today*. 2021;8(3):528-534. DOI: 10.14719/pst.2021.8.3.1127

Marka R., Nanna R.S. Optimization of factors affecting *Agrobacterium*-mediated genetic transformation in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Advances in Plants & Agriculture Research*. 2018;8(3):275-282. DOI: 10.15406/apar.2018.08.00327

Mehta R., Radhakrishnan T., Kumar A. Coat protein-mediated transgenic resistance of peanut (*Arachis hypogaea* L.) to peanut stem necrosis disease through *Agrobacterium*-mediated genetic transformation. *Indian Journal of Virology*. 2013;24:205-213. DOI: 10.1007/s13337-013-0157-9

Mroginski L.A.; Kartha K.K.; Shylik J.P. Regeneration of peanut (*Arachis hypogaea*) plantlets by *in vitro* culture of immature leaves. *Canadian Journal of Botany*. 1981;59:826-830. DOI: 10.1139/B81-115

Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15:473-497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

Pitman R.N., Banks D.J., Kirby J.S. *In vitro* culture of immature peanut (*Arachis spp.*) leaves: morphogenesis and plantlet regeneration. *Peanut Science*. 1983;10(1):21-25. DOI: 10.3146/i0095-3679-10-1-7

Rohini V.K., Rao K.S. Transformation of peanut (*Arachis hypogaea* L.): a non-tissue culture based approach for generating transgenic plants. *Plant Science*. 2000;150(1):41-49.

Sawada H., Ieki H., Oyaizu H., Matsumoto S. Proposal for rejection of *Agrobacterium tumefaciens* and revised descriptions for the genus *Agrobacterium* and for *Agrobacterium radiobacter* and *Agrobacterium rhizogenes*. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1993;43(4):694-702.

Tuz R.K., Podolnaya L.P., Asfandiyarova M.Sh., Dubovskaya A.G., Eremin V.A., Migacheva E.O. Variability of peanut samples of VNIIMK's breeding in the conditions of the Astrakhan region. *Oil Crops. Scientific and Technical Bulletin of VNIIMK*. 2018;4(176):64-67. [In Russian] (Туз Р.К., Подольная Л.П., Асфандиярова М.Ш., Дубовская А.Г., Еремин В.А., Мигачева Е.О. Изменчивость образцов арахиса селекции ВНИИМК в условиях Астраханской области. Масличные культуры. Научно-технический бюллетень ВНИИМК. 2018;4(176):64-67). DOI: 10.25230/2412-608X-2018-3-175-64-67

Young J.M., Kuykendall L.D., Martínez-Romero E., Kerr A., Sawada H. A revision of *Rhizobium* Frank 1889, with an emended description of the genus, and the inclusion of all species of *Agrobacterium* Conn 1942 and *Allorhizobium undicola* de

Lajudie et al. 1998 as new combinations: *Rhizobium radiobacter*, *R. rhizogenes*, *R. rubi*, *R. undicola*, and *R. vitis*. *International Journal of Systematics and Evolutionary Microbiology*. 2001;51(1):89-103. doi: 10.1099/00207713-51-1-89

Информация об авторах

Бемова Виктория Дмитриевна, лаборант-исследователь, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, viktoriamemova@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9574-0356>

Макарова Лариса Георгиевна, ведущий специалист, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, larisa.mackarova@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7913-3815>

Гурина Елена Олеговна, специалист, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, len238907@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3828-4005>

Гаврилова Вера Алексеевна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, v.gavrilova@vir.nw.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8110-9168>

Матвеева Татьяна Валерьевна, доктор биологических наук, профессор кафедры генетики, Санкт-Петербургский государственный университет, 199034 Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9, radishlet@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-8569-6665>

Information about the authors

Viktoriya D. Bemova, Research Laboratory Assistant, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, viktoriamemova@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9574-0356>

Larisa G. Makarova, Leading Specialist, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, larisa.mackarova@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7913-3815>

Elena O. Gurina, Specialist, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, len238907@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3828-4005>

Vera A. Gavrilova, Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, v.gavrilova@vir.nw.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8110-9168>

Tatiana V. Matveeva, Dr. Sci. (Biology), Professor, Department of Genetics, St. Petersburg State University, 7/9, Universitetskaya Embankment, St. Petersburg, 199034 Russia, radishlet@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-8569-6665>

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 20.07.2022; одобрена после рецензирования 20.08.2022; принята к публикации 26.09.2022.

The article was submitted on 20.07.2022; approved after reviewing on 20.08.2022; accepted for publication on 26.09.2022.

Обзорная статья
УДК 631.52:635.9
DOI: 10.30901/2658-6266-2022-3-01



Применение системы CRISPR/Cas для редактирования генов декоративных культур

Р. С. Рахмангулов

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Руслан Султанович Рахмангулов, r.rakhmangulov@vir.nw.ru

Декоративные растения широко распространены и пользуются популярностью во всем мире. Для некоторых стран цветоводство имеет весомое экономическое значение. В России также имеются благоприятные перспективы для развития промышленного цветоводства. Поспособствовать этому может прорывной метод редактирования генов хозяйственно-ценных признаков растений CRISPR/Cas, который, таким образом, позволяет вывести растения за пределы потенциальной внутривидовой изменчивости и решить вопрос получения нетрансгенных модифицированных растений. В данной статье проведен анализ современного состояния селекции декоративных культур с помощью метода генетического редактирования CRISPR/Cas. Статьи были отобраны из базы данных Scopus. В результате поиска публикаций, посвященных 50 наиболее распространенным декоративным культурам, найдено 26 статей, посвященных генетическому редактированию с помощью системы CRISPR/Cas. Восемь из них посвящены редактированию генома петунии, по три публикации выявлено для фаленопсиса и ипомеи, по две – для дендробиума, горечавки, лилии, торении, и по одной – для хризантемы, каланхое, пуансеттии, табака обыкновенного. Отобранные статьи были разделены на три группы. В первую группу вошли работы, в которых проведены исследования по изучению механизмов регуляции генов полезных признаков, а также оптимизации метода CRISPR/Cas применительно к конкретной культуре. Во вторую группу были отнесены работы, направленные на изменение окраски цветков и листьев. К третьей группе были отнесены работы по увеличению продолжительности жизни цветка и получению растений с махровыми цветками. В обзоре представлены работы по оптимизации генетического редактирования генов у представителей семейства орхидные Orchidaceae Juss. Также отмечена перспективность применения генетического редактирования с помощью системы CRISPR/Cas, что может ускорить качественные преобразования геномов и повысить эффективность селекции, что особенно важно в современных условиях.

Ключевые слова: декоративные культуры, генетическое редактирование, направленный мутагенез, CRISPR/Cas.

Благодарности: Статья подготовлена в рамках государственного задания ВИР согласно тематическому плану НИР по теме № 0481-2022-0007 «Выявление новых генетических маркеров селекционно значимых свойств и новых аллельных вариантов хозяйственно ценных генов в генофонде культурных растений и их диких родичей при помощи геномных и постгеномных технологий».

Для цитирования: Рахмангулов Р.С. Применение системы CRISPR/Cas для редактирования генов декоративных культур. *Биотехнология и селекция растений*. 2022;5(3):33-41. DOI: 10.30901/2658-6266-2022-3-01

Прозрачность финансовой деятельности. Автор не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Автор благодарит рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы. Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы.

© Рахмангулов Р.С., 2022

Review article

DOI: 10.30901/2658-6266-2022-3-01

Application of the CRISPR/Cas system for gene editing in ornamental crops

Ruslan S. Rakhmangulov

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia

Corresponding author: Ruslan S. Rakhmangulov, r.rakhmangulov@vir.nw.ru

Ornamental plants are widespread and popular all over the world. Floriculture industry is of significant economic importance for some countries. Favorable prospects for the development of industrial floriculture were also noted for Russia. This can be facilitated by CRISPR/Cas, a breakthrough method of editing genes responsible for economically valuable traits of plants, which allows bypassing the limitations of the potential intraspecific variability of plants and solving the problem of obtaining non-transgenic modified plants. This article analyzes the current status of ornamental crop breeding using the CRISPR/Cas genetic editing method. The articles were selected from the Scopus database. A search encompassing 50 most common ornamental crops yielded the total of 26 articles on genetic editing using the CRISPR/Cas system, in particular: 8 articles featuring petunia; 1 per each crop on chrysanthemum, kalanchoe, poinsettia and tobacco; 2 per each on dendrobium, gentian, lily and torenia, and 3 per each on phalaenopsis and ipomoea. The found articles were divided into three groups. The first group includes works devoted to studies of mechanisms of genes controlling useful traits, as well as the optimization of the CRISPR/Cas method for a particular crop. The second group unites works aimed at modifying color of flowers and leaves. The third group includes works on increasing the life span of a flower and obtaining double flowers. The review offers the works on the optimization of gene editing in representatives of the orchid family Orchidaceae Juss. Also, it notes the prospects of gene editing by the CRISPR/Cas system, which can accelerate qualitative improvements in breeding and raise its effectiveness, it being especially important in present conditions.

Key words: ornamental crops, genetic editing, site-directed mutagenesis, CRISPR/Cas.

Acknowledgements: The article was prepared as part of the VIR Government Assignment in accordance with the R&D Thematic Plan, Topic No. 0481-2022-0007 "Identification of new genetic markers of properties of importance for breeding and new allelic variants of economically valuable genes in the gene pool of cultivated plants and their wild relatives using genomic and post-genomic technologies".

For citation: Rakhmangulov R.S. Application of the CRISPR/Cas system for gene editing in ornamental crops. *Biotechnology and Plant Breeding*. 2022;5(3):33-41. DOI: 10.30901/2658-6266-2022-3-01

Financial transparency. The author has no financial interest in the presented materials or methods. The author thanks the reviewers for their contribution to the peer review of this work. The journal's opinion is neutral to the presented materials, the author, and his or her employer.

© Rakhmangulov R.S., 2022

Введение

На сегодняшний день декоративные растения, выращиваемые на срезку, а также садовые и комнатные цветковые растения, широко распространены по всему миру. Промышленное цветоводство для некоторых стран имеет весомое экономическое значение. Для России перспективы развития данной отрасли растениеводства также весьма благоприятны. Для интенсивного качественного развития данной отрасли необходимо корректное сочетание современных биотехнологических инструментов селекции с опытом отечественных селекционеров в области цветоводства (Rakhmangulov, Tikhonova, 2021).

Новейшим методом улучшения хозяйственно-ценных признаков растений является редактирование генома с помощью системы CRISPR/Cas, где CRISPR (англ. Clustered Regularly Interspaced Palindromic Repeats) – это адаптивная иммунная система у ряда бактерий, которая использует белок Cas (англ. CRISPR associated protein, CRISPR-ассоциированный белок) для запоминания, последующей проверки и разрезания чужеродной ДНК (Jinek et al., 2012; Heler et al., 2015). Cas позволяет расщеплять практически любую нуклеотидную последовательность, комплементарную управляющей РНК (Jinek et al., 2012). Использование данной системы позволило раздвинуть границы потенциальной внутривидовой изменчивости растений, а также свести к минимуму противоречия, сопряженные с получением трансгенных модифицированных растений (Rakhmangulov, Tikhonova, 2021). С открытием данного метода появилась возможность эффективной модификации генов для улучшения свойств многих видов растений путем направленного мутагенеза. Активное развитие системы генетического редактирования CRISPR/Cas обусловлено простотой использования программируемых нуклеаз, что ускоряет получение новых сортов растений с заданными характеристиками. Развитию направления генетического редактирования посредством системы CRISPR/Cas посвящено множество обзоров и методических статей, где сообщается об успешном редактировании генов ряда злаковых, овощных, плодовых, ягодных, а также некоторых декоративных культур (Khlestkina, Shumny, 2016; Kishi-Kaboshi et al., 2018; Tikhonova, Khlestkina, 2019; Kuluev et al., 2019; Strygina, Khlestkina, 2020; Wang et al., 2021; Rakhmangulov, Tikhonova, 2021). В настоящей работе представлен обзор достижений в области редактирования генома декоративных культур.

Анализ современного состояния селекции декоративных культур с помощью метода генетического редактирования CRISPR/Cas выполнен с использованием базы данных международного научного цитирования Scopus (Scopus, 2022). Отбор статей осуществляли по наличию слова CRISPR и наименования культуры в названиях, аннотациях и ключевых словах публикаций. В результате поиска с использованием названий 50 наиболее рас-

пространенных декоративных культур найдено 57 статей, среди которых отмечены двадцать пять публикаций для петунии, шесть для дендробиума, по три – для ипомеи, фаленопсиса, горечавки, по две – для львиного зева, розы, лилии, торении, пиона, и по одной – для гвоздики, хризантемы, каланхоэ, пуансеттии, табака обыкновенного. Не найдена информация для таких культур как астра, эустома, гербера, тагетес, цинния, виола, дендрантема, кларкия, перилла, василек, табак душистый, губастик, целлозия, гибискус, примула, подсолнечник, лаванда, эшшольция, сальвия, бегония, османтус, антуриум, дельфиниум, пенстемон, сенполия, вербена, ирис, маттиола, цикламен, нимфея, лотос, персик, гардения, рододендрон.

В последующий анализ были отобраны публикации, в которых отражены оригинальные результаты исследований с применением системы CRISPR/Cas. В итоге количество таких статей составило 26. Восемь из них посвящены редактированию генома петунии, по три публикации найдено для фаленопсиса и ипомеи, по две – для дендробиума, горечавки, лилии, торении, и по одной – для хризантемы, каланхоэ, пуансеттии, табака обыкновенного (рисунок). Также сформирован список модифицированных генов (таблица), в котором отобраны названия видов растений и соответствующих им генов-мишеней, тип модификации генов, характер изменения фенотипа после модификации.

Изучение механизмов регуляции генов и оптимизация метода

В большинстве случаев найденные статьи можно разделить на три группы. В первую группу входят работы по изучению механизмов регуляции генов полезных признаков, а также посвященные оптимизации метода CRISPR/Cas в отношении конкретной культуры. Так, например, у петунии гибридной с помощью РНК-управляемой эндонуклеазы (RGEN) и рибонуклеопротеинов (RNP) произведено редактирование гена *PhNR* нитратредуктазы, отвечающего за ассимиляцию азота. В результате выявлены сайт-специфические мутации, подтверждающие эффективность прямой доставки рибонуклеопротеинов (Subburaj et al., 2016). С целью изучения генетических механизмов самонесовместимости у петунии *Petunia inflata* (R.E.Fr.) Wijsman был произведен нокаут гена *PiSSK1*, входящего в комплекс убиквитинлигазы *E3 SCF (Skp1-Cullin1-F-box)*. Это привело к ингибированию роста пыльцевых трубок у мутантных линий, имеющих нокаутированный ген *PiSSK1* в пыльце (Sun, Kao, 2018). Важное значение имеют работы по совершенствованию трансформации у полиплоидных декоративных растений. Одним из таких растений является гексаплоидная хризантема *Chrysanthemum × morifolium* (Ramat.) Hemsl. В ходе этих экспериментов было произведено редактирование гена желто-зеленого флуоресцентного белка *Chiridius poppei* Giesbrecht (*CpYGFP*) у двух трансгенных линий хризантемы

C. × morifolium ‘Sei-Marin’, содержащих последовательность *CpYGFP*. В итоге получены каллусы мутантных линий с пониженной флуоресценцией (Kishi-Kaboshi et al., 2017). В другом исследовании подтверждена регуляторная роль генов *LpABCB21* (ATP-binding cassette (ABC) transporter B family) и *LpPILS7* (PIN-LIKES) в транспорте ауксина в процессе соматического эмбриогенеза *Lilium pumilum* DC. Fisch. (Song et al., 2020). Для выяснения функций генов, вовлеченных в САМ-путь фотосинтеза (Crassulacean Acid Metabolism – кислотного метаболизма по типу толстянковых), у модельного растения

M₂ Kalanchoe fedtschenkoi (Raym. – Hamet & H. Perrier) Lauz.-March) был осуществлен нокаут гена *KfePHOT2*, контролирующего работу фототропина 2, рецептора синего света, что позволило выяснить его значение для регуляции водного обмена, опосредованного устьицами, и фиксации CO₂ в зависимости от времени суток (Liu et al., 2019). Таким образом генетическое редактирование с помощью CRISPR/Cas имеет значительный потенциал как в изучении функции генов, так и в разработке набора инструментов для редактирования генома декоративных культур.

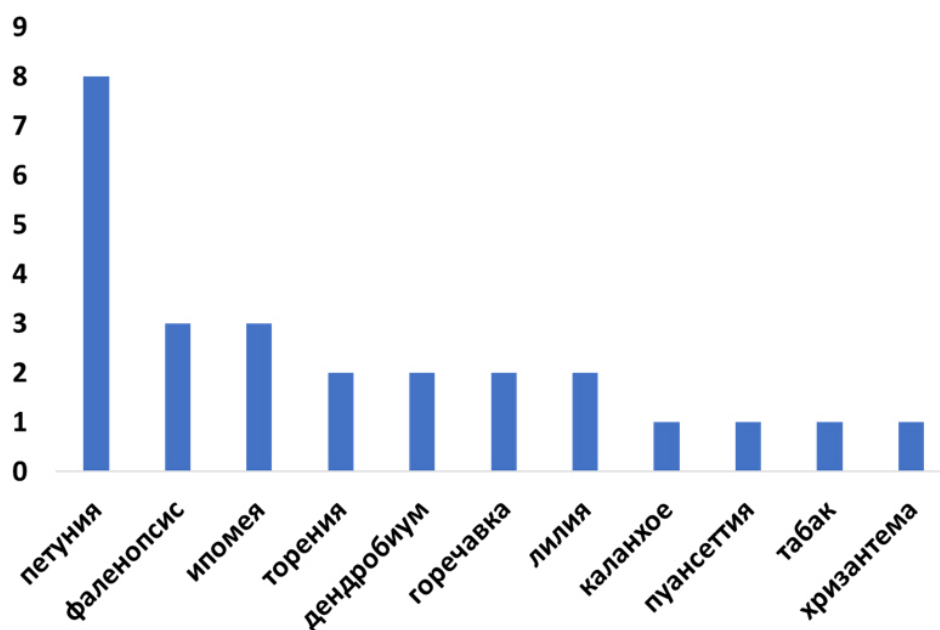


Рисунок. Число генов, модифицированных при помощи системы геномного редактирования CRISPR/Cas с целью улучшения полезных признаков декоративных культур.

Figure. The number of genes modified using the CRISPR/Cas genomic editing system to improve useful traits in ornamental crops.

Отдельно стоит отметить исследования по оптимизации генетического редактирования с помощью системы CRISPR/Cas среди представителей семейства орхидные (Orchidaceae Juss.), являющегося вторым по величине и лидирующим по популярности семейством цветковых растений. Так, метод CRISPR/Cas был нацелен на несколько генов *MADS*, ответственных за инициацию и развитие цветка фаленопсиса *Phalaenopsis* Blume (Tong et al., 2019), а также пяти генов-мишеней (*C3H*, *C4H*, *4CL*, *CCR* и *IRX*) в цепи биосинтеза лигноцеллюлозы у *Dendrobium officinale* Kimura et Migo (Kui et al., 2017). В другом исследовании с целью отработки метода CRISPR/Cas9 для последующего ускорения селекции был произведен нокаут модельного гена фитоендесатуразы *PDS3* у *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume (Semiarti et al., 2020). С целью создания пестролистных

форм *P. amabilis* был осуществлен направленный мутагенез гена *VARIEGATA2* (*VAR2*). В результате была получена мутантная линия с бледно-желтоватой окраской листьев (Nopitasari et al., 2020). Подобным образом получены мутанты дендробиума крупнолистного *Dendrobium macrophyllum* A. Rich., однако мутации в виде замены в гене *VAR2* не привели к изменениям фенотипа (Setiawati et al., 2020).

Изменение окраски цветков и листьев

Во вторую группу включены работы, связанные с изучением возможности изменения различных типов окраски цветков и листьев. Для апробации метода CRISPR/Cas был впервые успешно отредактирован ген фитоендесатуразы *LpPDS* у двух видов лилий – *L. pumilum* DC

Таблица. Гены декоративных культур, модифицированные при помощи системы геномного редактирования CRISPR/Cas

Table. Ornamental crop genes modified using the CRISPR/Cas genomic editing system

Род/ Genus	Ген/ Gene	Характер изменения фенотипа/ Nature of phenotype change	Способ модификации гена/ Gene modification technique	Способ доставки/ Delivery mechanism	Эффективность/ Effectiveness, %	Ссылка/ Reference
Петуния <i>Petunia</i> Juss.	<i>ATG6</i>	преждевременное старение лепестков, снижение количества завязанных коробочек и семян	нокаут	Агробактериальная трансформация	57	Lin, Jones, 2022
	<i>AN4</i>	отсутствие жилкования в трубке венчика	нокаут	Агробактериальная трансформация	-	Zhang et al. 2021
	<i>F3H</i>	бледно-пурпурно-розовая окраска цветков	направленный мутагенез	ПЭГ-опосредованная трансформация протопластов	9,99-26,27	Yu et al., 2021
	<i>ACO1, ACO3, ACO4</i>	снижение продукции этилена, увеличение продолжительности жизни цветка	направленный мутагенез	Агробактериальная трансформация	8,96-14,92	Xu et al., 2021
	<i>NR</i>	дефицит усвоения нитратов	нокаут	ПЭГ-опосредованная трансформация протопластов	2,2-21	Subburaj et al., 2016
	<i>SSK1</i>	совместимость мутантных линий	нокаут	Агробактериальная трансформация	-	Sun, Kao, 2018
	<i>PDS</i>	альбиносные линии	направленный мутагенез	Агробактериальная трансформация	55,6–87,5	Zhang et al., 2016
Пуансеттия <i>Euphorbia</i> L.	<i>F3H</i>	изменение окраски цветка	нокаут	Агробактериальная трансформация	5	Nitarska et al., 2021
Торения <i>Torenia</i> L.	<i>F3H</i>	бледно-голубая окраска цветка	направленный мутагенез	Агробактериальная трансформация	80	Nishihara et al., 2018
	<i>PLE, FAR</i>	многолепестковость	нокаут	Агробактериальная трансформация	-	Sasaki, Ohtsubo, 2020.
Каланхоэ <i>Kalanchoe</i> Adans.	<i>PHOT2</i>	устычная проводимость, фиксация CO ₂	нокаут	Агробактериальная трансформация	-	Liu et al., 2019
Лилия <i>Lilium</i> L.	<i>PDS</i>	альбиносные линии	нокаут	Агробактериальная трансформация	4-29	Yan et al., 2019
	<i>ABC2, 1PILS7</i>	транспорт ауксина	направленный мутагенез	Агробактериальная трансформация	9,4-46,2	Song et al., 2020.
Горечавка <i>Gentiana</i> L.	<i>GST1</i>	белая и бледно-голубая окраска цветка	нокаут	Агробактериальная трансформация	13	Tasaki et al., 2020
	<i>5GT, 3'GT, 5/3'AT</i>	бледно-красные цветки фиолетовые тускло-розовые цветки бледно-лиловые цветки	нокаут	Агробактериальная трансформация	-	Tasaki et al., 2019
Табак <i>Nicotiana</i> L.	<i>PET</i>	махровые цветки	нокаут	Агробактериальная трансформация	-	Gattolin et al., 2020

Род/ Genus	Ген/ Gene	Характер изменения фенотипа/ Nature of phenotype change	Способ модификации гена/ Gene modification technique	Способ доставки/ Delivery mechanism	Эффективность/ Effectiveness, %	Ссылка/ Reference
Фаленопсис <i>Phalaenopsis</i> Blume	<i>PDS3</i>	альбиносные линии	нокаут	Агробактериальная трансформация	0,96	Semiarti et al., 2020
	<i>VAR2</i>	бледно-желтоватая окраска листьев	направленный мутагенез	Агробактериальная трансформация	1,2-1,6	Nopitasari et al., 2020
	<i>MADS</i>	гетерозиготный геном, длительный ювенильный период	направленный мутагенез	Агробактериальная трансформация	33,3-97,9	Tong et al., 2019
Дендробиум <i>Dendrobium</i> Sw.	<i>VAR2</i>	мутация в виде замены	направленный мутагенез	Агробактериальная трансформация	0,66%	Setiawati et al., 2020
	<i>C3H</i> , <i>C4H</i> , <i>4CL</i> , <i>CCR</i> , <i>IRX</i>	сверхэкспрессия	направленный мутагенез	Агробактериальная трансформация	6,7-33,3	Kui et al., 2017
Хризантема <i>Chrysanthemum</i> L.	<i>YGFP</i>	мутация в последовательности	направленный мутагенез	Агробактериальная трансформация	4,2-33,3	Kishi-Kaboshi et al., 2018
Ипомея <i>Ipomoea</i> L.	<i>CCD</i>	бледно-желтые цветки	нокаут	Агробактериальная трансформация	-	Watanabe et al., 2018
	<i>EPH1</i>	задержка старения лепестков	направленный мутагенез	Агробактериальная трансформация	100	Shibuya et al., 2018
	<i>DFR-B</i>	белый окраска цветка, зеленая окраска стебля	направленный мутагенез	Агробактериальная трансформация	75	Watanabe et al., 2017

и *L. longiflorum* Thunb. ‘White Heaven’ и в результате получены мутантные формы с измененным фенотипом (белой, бледно-желтой, бело-зеленой окраской листьев у трансформантов) (Yan et al., 2019). В результате редактирования гена *PDS* петунии ‘Mitchell Diploid’ (MD) получены мутантные линии с белой, мозаичной и зеленой окраской побегов (Zhang et al., 2016).

В стремлении получить оранжевую окраску прицветников у красноцветущей пуансеттии ‘Christmas Eve’ (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch), с применением CRISPR/Cas9 был произведен нокаут гена флавоноид-3'-гидроксилазы *F3'H* (Nitarska et al., 2021). В другом исследовании осуществлен направленный мутагенез гена дигидрофлавонолредуктазы *DFR-B* ипомеи *Ipomoea nil* (L.) Roth и получены мутантные линии с белыми и бледно-фиолетовыми цветками, с зелеными стеблями (у исходного растения были фиолетовые цветки и стебли) (Watanabe et al., 2017). Далее с целью получения истинно желтой окраски цветков произведено редактирование гена *InCCD* диоксигеназы, ответственной за расщепление каротиноидов у белоцветковой формы ипомеи. Это привело к 20-кратному увеличению содержания каротиноидов

в лепестках растений, отредактированных с помощью CRISPR/Cas. В результате растения-регенеранты получили бледно-желтую окраску (Watanabe et al., 2018). За счет воздействия на ген *F3H* флаванон-3-гидроксилазы у *Torenia fournieri* Linden ex E. Fourn. с высокой эффективностью были получены формы с бледно-голубой окраской цветков. Таким фенотипом характеризовалось порядка 80% линий, полученных из растений-регенерантов (Nishishara et al., 2018). Сообщается, что в результате сайт-специфического мутагенеза в последовательностях генов *F3HA* и *F3HB* сорта ‘Madness Midnight’ *Petunia* × *hybrida* получена мутантная линия с бледно-пурпурно-розовой окраской цветков – двойной мутант *f3ha f3hb* (Yu et al., 2021).

Влияние двух генов, а именно *DEEP PURPLE (DPL)* и *ANTHOCYANIN4 (AN4)*, ответственных за синтез антоциана, на характер жилкования трубки венчика петунии было изучено с использованием системы CRISPR/Cas9 и инбредных линий MD. Установлено, что этот признак определяется фактором транскрипции R2R3-MYB гена *AN4*, но не *DPL*, поскольку нокаут *AN4* у соответствующих линий приводил к отсутствию жилкования на трубке

венчика (Zhang et al., 2021). Нокаут генов антоцианового ряда привел к изменению синей окраски цветков у горечавки японской *Gentiana triflora* Pall. × *Gentiana scabra* Bunge (сорт 'Albireo'): гена *Gt5GT*, кодирующего антоцианин-5-О-гликозилтрансферазу, на бледно-красно-фиолетовую, *Gt3'GT* – гена антоцианин-3'-О-гликозилтрансферазы – на тускло-розовую, гена *Gt5/3'AT*, отвечающего за синтез антоцианин-5/3'-ароматической ацилтрансферазы, – на бледно-лиловую (Tasaki et al., 2019). В последующей работе нокаут гена глутатион S-трансферазы (*GST1*) привел к изменению окраски цветков горечавки до белой и бледно-голубой (Tasaki et al., 2020).

Увеличение продолжительности жизни цветка, изменение его структуры

К третьей группе исследований отнесены работы по увеличению продолжительности жизни цветка и направленные на получение форм с махровыми цветками. Так, для изучения роли аутофагии в увеличении продолжительности жизни цветков у инбредной линии петунии MD P. × *hybrida* был произведен нокаут ключевого гена *ATG6* (*Autophagy Gene 6*) – негативного регулятора увядания лепестков. У мутантных линий с нокаутированным геном *PhATG6* наблюдали нарушения в ремобилизации питательных веществ; более ранняя индукция генов биосинтеза этилена *PhACS* и *PhACO1* приводила к ранней экспрессии генов цистеиновой протеазы *PhCP10* и переносчика фосфата *PhPT1*. Мутанты по гену *PhATG6* характеризовались ускоренным старением лепестков, снижением числа завязавшихся семенных коробочек и семян (Lin, Jones, 2022). В изучении продолжительности жизни цветка в ряде работ продемонстрирована роль генов *PhACO1*, *PhACO3*, *PhACO4*, кодирующих фермент биосинтеза этилена 1-аминоциклопропан-1-карбоксилатаксидазы. Редактирование генов *PhACO1*, *PhACO3*, *PhACO4* у петунии 'Mirage Rose' привело к снижению продукции этилена в 1,5 раза и 2,8-3 раза в пестиках и венчиках соответственно, а также к повышенной продолжительности жизни цветков мутантных линий до 8-9,5 дней по сравнению с 6 днями у исходной линии (Xu et al., 2021).

Интересными представляются работы, связанные с изучением признака махровости цветка. Одновременный нокаут двух генов *MADS*-бокс класса C: *PLENA* (*PLE*) и *FALINELLI* (*FAR*) у сортов торении *T. fournieri* 'Crown Violet' и 'Crown White' привел к получению регенерантов с многолепестковыми цветками (Sasaki, Ohtsubo, 2020). С этой же целью был произведен нокаут гена *PETALOSA* (*PET*) у *Nicotiana tabacum* L., в результате чего у мутантной линии развились дополнительные петалоидные структуры (Gattolin et al., 2020).

Заключение

Таким образом, продемонстрирована применимость метода генетического редактирования CRISPR/Cas к различным видам декоративных культур. С помощью данного метода возможно решить дискуссионную проблему безопасности генетически модифицированных организмов (Tong et al., 2020). Тем не менее, все еще необходимы обширные исследования для оценки данной методики на других видах растений для расширения области применения (Zhang et al., 2016). Среди сложностей, с которыми придется столкнуться при редактировании генов декоративных культур, следует отметить полиплоидию, отсутствие информации о геноме, затруднения при получении жизнеспособных протопластов, низкий регенерационный потенциал в культуре *in vitro*.

В целом применение генетического редактирования CRISPR/Cas становится экономически эффективным инструментом редактирования генома различных растений. Совершенствование метода представляет большие перспективы для появления новых сочетаний признаков, которые невозможно было бы достичь с помощью традиционных методов селекции. Также данный метод способен обеспечить необходимые качественные преобразования для ускорения селекционного процесса.

References / Литература

- Gattolin S., Cirilli M., Chessa S., Stella A., Bassi D., Rossini L. Mutations in orthologous *PETALOSA TOE*-type genes cause a dominant double-flower phenotype in phylogenetically distant eudicots. *Journal of Experimental Botany*. 2020;71(9):2585-2595. DOI: 10.1093/jxb/eraa032
- Heler R., Samai P., Modell J.W., Weiner C., Goldberg G.W., Bikard D., Marraffini L.A. Cas9 specifies functional viral targets during CRISPR-Cas adaptation. *Nature*. 2015;519(7542):199-202. DOI: 10.1038/nature14245
- Jinek M., Chylinski K., Fonfara I., Hauer M., Doudna J.A., Charpentier E.A. Programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*. 2012;337(6096):816-821. DOI: 10.1126/science.1225829
- 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
- Kishi-Kaboshi M., Aida R., Sasaki K. Generation of gene-edited chrysanthemum morifolium using multicopy transgenes as targets and markers. *Plant Cell Physiology*. 2017;58(2):216-226. DOI: 10.1093/pcp/pcw222
- Kui L., Chen H., Zhang W., He S., Xiong Z., Zhang Y., Yan L., Zhong C., He F., Chen J., Zeng P., Zhang G., Yang S., Dong Y., Wang W., Cai J. Building a genetic manipulation tool box for orchid biology: identification of constitutive promoters and application of CRISPR/Cas9 in the orchid, *Dendrobium officinale*. *Frontiers in Plant Science*. 2017;7:2036. DOI: 10.3389/fpls.2016.02036
- Kuluev B.R., Kiryanova O.Yu., Gerashchenkov G.A., Rozhnova N.A., Gumerova G.R., Vershinina Z.R., Matniyazov R.T., Akhmetzyanova L.U., Knyazev A.V., Mikhaylova E.V., Garafutdinov R.R., Baymiev An.Kh., Gubaydullin I.M., Baymiev Al.Kh., Chemeris A.V. Some novelties in CRISPR/Cas

- genome editing and related areas. *Biomics*. 2019;11(3):315-343. [In Russian] (Кулуев Б.Р., Кирьянова О.Ю., Геращенко Г.А., Рожнова Н.А., Гумерова Г.Р., Вершинина З.Р., Матниязов Р.Т., Ахметзянова Л.У., Князев А.В., Михайлова Е.В., Гарафутдинов Р.Р., Баймиев А.Х., Губайдуллин И.М., Баймиев Ал.Х., Чемерис А.В. Некоторые новшества в CRISPR/Cas геномном редактировании и в смежных областях. *Биомика*. 2019;11(3):315-343). DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2019-27
- Lin Y., Jones M.L. CRISPR/ Cas9-mediated editing of autophagy gene 6 in *Petunia* decreases flower longevity, seed yield, and phosphorus remobilization by accelerating ethylene production and senescence-related gene expression. *Frontiers in Plant Science*. 2022;13:840218. DOI: 10.3389/fpls.2022.840218
- Liu D., Chen M., Mendoza B., Cheng H., Hu R., Li L., Trinh C.T., Tuskan G.A., Yang X. CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis for functional genomics research of crassulacean acid metabolism plants. *Journal of Experimental Botany*. 2019;70(22):6621-6629. DOI: 10.1093/jxb/erz415
- Nishihara M., Higuchi A., Watanabe A., Tasaki K. Application of the CRISPR/Cas9 system for modification of flower color in *Torenia fournieri*. *BMC Plant Biology*. 2018;18:331. DOI 10.1186/s12870-018-1539-3
- Nitarska D., Boehm R., Debener T., Lucaciu R.C., Halbwrith H. First genome edited poinsettias: targeted mutagenesis of flavonoid 3'-hydroxylase using CRISPR/Cas9 results in a colour shift. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 2021;147:49-60. DOI: 10.1007/s11240-021-02103-5
- Nopitasari S., Setiawati Y., Lawrie M.D., Purwantoro A., Widada J., Sasongko A.B., Yoshioka Y., Matsumoto S., Ninomiya K., Asano Y., Semiarti E. Development of an agrobacterium-delivered CRISPR/Cas9 for *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume genome editing system. *The 6th International Conference on Biological Science ICBS. AIP Publishing*. 2020;2260:060014-1-060014-10. DOI: 10.1063/5.0015868
- Rakhmangulov R.S., Tikhonova N.G. Breeding of ornamental plants in Russia. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(4):40-54. [In Russian] (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
- Sasaki K., Ohtsubo N. Production of multi-petaled *Torenia fournieri* flowers by functional disruption of two class-C MADS-box genes. *Planta*. 2020;251:101. DOI: 10.1007/s00425-020-03393-3
- Scopus, Elsevier's abstract and citation database. Available from: <https://www.scopus.com/search/form.uri?zone=TopNavBar&origin=sbrowse&display=basic#basic> [accessed July 05, 2022]
- Semiarti E., Nopitasari S., Setiawati Y., Lawrie M.D., Purwantoro A., Widada J., Ninomiya K., Asano Y., Matsumoto S., Yoshioka Y. Application of CRISPR/Cas9 genome editing system for molecular breeding of orchids. *Indonesian Journal of Biotechnology*. 2020;25(1):61-68. DOI: 10.22146/ijbiotech.39485
- Setiawati Y., Nopitasari S., Lawrie M.D., Purwantoro A., Widada J., Sasongko A.B., Ninomiya K., Asano Y., Matsumoto S., Yoshioka Y., Semiarti E. Agrobacterium-mediated transformation facilitates the CRISPR/Cas9 genome editing system in *Dendrobium macrophyllum* A. Rich. Orchid. *The 6th International Conference on Biological Science ICBS. AIP Publishing*. 2020;2260:060016-1-060016-9. DOI: 10.1063/5.0016200
- Shibuya K., Watanabe K., Ono M. CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of the EPHEMERAL1 locus that regulates petal senescence in Japanese morning glory. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2018;131:53-57. DOI: 10.1016/j.plaphy.2018.04.036
- Song S., Yan R., Wang C., Wang J., Sun H. Improvement of a genetic transformation system and preliminary study on the function of *LpABC21* and *LpPILS7* based on somatic embryogenesis in *Lilium pumilum* DC. Fisch. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(18):6784. DOI: 10.3390/ijms21186784
- 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;35:1535-1544. DOI: 10.1007/s00299-016-1937-7
- Sun L., Kao T.-H. CRISPR/Cas9-mediated knockout of PiSSK1 reveals essential role of S-locus F-box protein-containing SCF complexes in recognition of non-self S-RNases during cross-compatible pollination in self-incompatible *Petunia inflata*. *Plant Reproduction*. 2018;31:129-143. DOI: 10.1007/s00497-017-0314-1
- Tasaki K., Higuchi A., Watanabe A., Sasaki N., Nishihara M. Effects of knocking out three anthocyanin modification genes on the blue pigmentation of gentian flowers. *Scientific Reports*. 2019;9:15831. DOI: 10.1038/s41598-019-51808-3
- Tasaki K., Yoshida M., Nakajima M., Higuchi A., Watanabe A., Nishihara M. Molecular characterization of an anthocyanin-related glutathione S-transferase gene in Japanese gentian with the CRISPR/Cas9 system. *BMC Plant Biology*. 2020;20:370. DOI: 10.1186/s12870-020-02565-3
- Tikhonova N.G., Khlestkina E.K. Genetic editing for improvement of fruit and small fruit crops. *Horticulture and viticulture*. 2019;(44):10-15. [In Russian] (Тихонова Н.Г., Хлесткина Е.К. Генетическое редактирование для улучшения плодовых и ягодных культур. *Садоводство и виноградарство*. 2019;(44):10-15). DOI: 10.31676/0235-2591-2019-4-10-15
- Tong C.-G., Wu F.-H., Yuan Y.-H., Chen Y.-R., Lin C.-S. High-efficiency CRISPR/Cas-based editing of *Phalaenopsis* orchid MADS genes. *Plant Biotechnology Journal*. 2020;18:889-891. DOI: 10.1111/pbi.13264
- Watanabe K., Kobayashi A., Endo M., Ono K.S., Toki S., Ono M. CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of the dihydroflavonol-4-reductase-B (*DFR-B*) locus in the Japanese morning glory *Ipomoea (Pharbitis) nil*. *Scientific Reports*. 2017;7:10028. DOI: 10.1038/s41598-017-10715-1
- Watanabe K., Oda-Yamamizo C., Sage-Ono K., Ohmiya A., Ono M. Alteration of flower colour in *Ipomoea nil* through CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of carotenoid cleavage dioxygenase 4. *Transgenic Research*. 2018;27:25-38. DOI: 10.1007/s11248-017-0051-0
- Xu J., Naing A.H., Bunch H., Jeong J., Kim H., Kima C.K. Enhancement of the flower longevity of petunia by CRISPR/Cas9-mediated targeted editing of ethylene biosynthesis genes. *Postharvest Biology and Technology*. 2021;174:111460. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2020.111460
- Yan R., Wang Z., Ren Y., Li H., Liu N., Sun H. Establishment of efficient genetic transformation systems and application of CRISPR/Cas9 genome editing technology in *Lilium pumilum* DC. Fisch. and *Lilium longiflorum* White Heaven. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20:2920. DOI: 10.3390/ijms20122920
- Yu J., Tu L., Subburaj S., Bae S., Lee G.-J. Simultaneous targeting of duplicated genes in *Petunia* protoplasts for flower color modification via CRISPR/Cas9 ribonucleoproteins. *Plant Cell Reports*. 2021;40:1037-1045. DOI: 10.1007/s00299-020-02593-1
- Zhang B., Xu X., Huang R., Yang S., Li M., Guo Y. CRISPR/Cas9-mediated targeted mutation reveals a role for *AN4* rather than *DPL* in regulating venation formation in the corolla tube of *Petunia hybrida*. *Horticulture Research*. 2021;8:116. DOI: 10.1038/s41438-021-00555-6
- Zhang B., Yang X., Yang C., Li M., Guo Y. Exploiting the CRISPR/Cas9 system for targeted genome mutagenesis in petunia. *Scientific Reports*. 2016;6:1-8. DOI: 10.1038/s41598-016-0001-8

Информация об авторах

Рахмангулов Руслан Султанович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория постгеномных исследований, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, r.rakhmangulov@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1200-3113>

Information about the authors

Ruslan S. Rakhmangulov, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Postgenomic Research, 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, <https://orcid.org/0000-0003-1200-3113>

Вклад авторов: автор сделал свой вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: the author made his contribution to this article.

Конфликт интересов: автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests: the author declares no conflict of interests.

Статья поступила в редакцию 18.07.2022; одобрена после рецензирования 10.08.2022; принята к публикации 25.08.2022

The article was submitted 18.07.2022; approved after reviewing 10.08.2022; accepted for publication on 25.08.2022.

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.

<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 for "ГЛАВНАЯ", "О НАС", "ТЕКУЩИЙ ВЫПУСК", "АРХИВЫ", "ОБЪЯВЛЕНИЯ", and "ПРИНЯТО В ПЕЧАТЬ". Below the navigation, there is a featured article section with a thumbnail image of a DNA helix and a brief description of the journal's content. To the right of this section is a vertical menu with options like "Отправить статью", "Правила для авторов", "Редакционная коллегия", "Редакционный совет", "Рецензирование", and "Этика публикаций". The main content area is divided into sections for "ТЕКУЩИЙ ВЫПУСК" (Current Issue), "ОТ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА" (From the Editor), and "СОХРАНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ" (Conservation of Genetic Resources of Plants). Each section lists articles with titles, authors, and options to view the PDF or annotations. The right sidebar contains a grid of logos for various databases and services, including DOAJ, COCIIONET, research4life, LENS.ORG, LIBRARY.RU, Google, РГБ, Science Index, WorldCat, Mendeley, CC, unpaywall, and Baidu. 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>

Анонс конференции ВИР



25 ноября 2022 г. исполняется 135 лет со дня рождения выдающегося ученого – ботаника, генетика, географа, растениевода, основателя мировой коллекции культурных растений **академика Николая Ивановича Вавилова** (1887–1943). В честь этой юбилейной даты Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР) 21–25 ноября 2022 года проводит V Вавиловскую международную конференцию и сателлитные мероприятия.

Ряд мероприятий конференции организован совместно с V Международной научной конференцией «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы», Санкт-Петербургским научным центром РАН, Международной научно-практической конференцией «ВАВИЛОВСКИЕ ЧТЕНИЯ-2022».

Сайт конференции: <https://www.vir.nw.ru/blog/2022/08/12/v-vavilovskaya-mezhdunarodnaya-konferentsiya-21-25-11-2022/>

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

4 номера в год (ежеквартально) / Publication frequency: Quarterly

<https://biosel.elpub.ru>; e-mail: pbi@vir.nw.ru

Языки: русский, английский / Languages: Russian, English

Индексируется в РИНЦ (НЭБ), DOAJ / Indexed/abstracted by Russian Index of Science Citation, DOAJ, AGRIS

Открытый доступ к полным текстам / Open access to full texts:

<https://biosel.elpub.ru>

<http://www.vir.nw.ru/pbi/>

https://www.elibrary.ru/title_about_new.asp?id=69575

Требования к статьям и правила рецензирования, электронный архив в открытом доступе и иная дополнительная информация размещены на сайте журнала <https://biosel.elpub.ru> / Full information for authors, reviewers, and readers (open access to electronic versions and subscription to print editions) can be found at <https://biosel.elpub.ru>

Прием статей через электронную редакцию на сайте журнала <https://biosel.elpub.ru>. Предварительно необходимо зарегистрироваться как автору, затем в правом верхнем углу страницы выбрать «Отправить рукопись». После завершения загрузки материалов обязательно выбрать опцию «Отправить письмо», в этом случае редакция автоматически будет уведомлена о получении новой рукописи / Manuscripts are accepted via the online editing resource at the Journal's website <https://biosel.elpub.ru>. The sender needs to register as the author and select in the upper righthand corner "Send a manuscript". After the loading of the materials, the option "Send a letter" is to be chosen, so that the editors would be automatically informed that a new manuscript has been received.

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

Переводчик: *С.В. Шувалов*

Корректор: *С.В. Шувалов*

Компьютерная верстка: *Г.К. Чухин*

Адрес редакции:

Россия, 190000, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, д. 42

Тел.: (812) 314-49-14; e-mail: pbi@vir.nw.ru; i.kotielkina@vir.nw.ru

Почтовый адрес редакции

Россия, 190000, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, д. 42, 44

Подписано в печать 30.09.2022. Формат 70×100¹/₈.

Бумага офсетная. Печать офсетная.

Печ. л. 5,5. Тираж 30 экз. Заказ № 377/4.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«Федеральный исследовательский центр

Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» (ВИР),

редакционно-издательский сектор ВИР

Россия, 190000, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, д. 42

Отпечатано в типографии

Индивидуальный предприниматель Юшкевич Галина Викторовна

Россия, 192286, г. Санкт-Петербург, Альпийский пер., д. 45

БИОТЕХНОЛОГИЯ
И СЕЛЕКЦИЯ
РАСТЕНИЙ

5(3), 2022