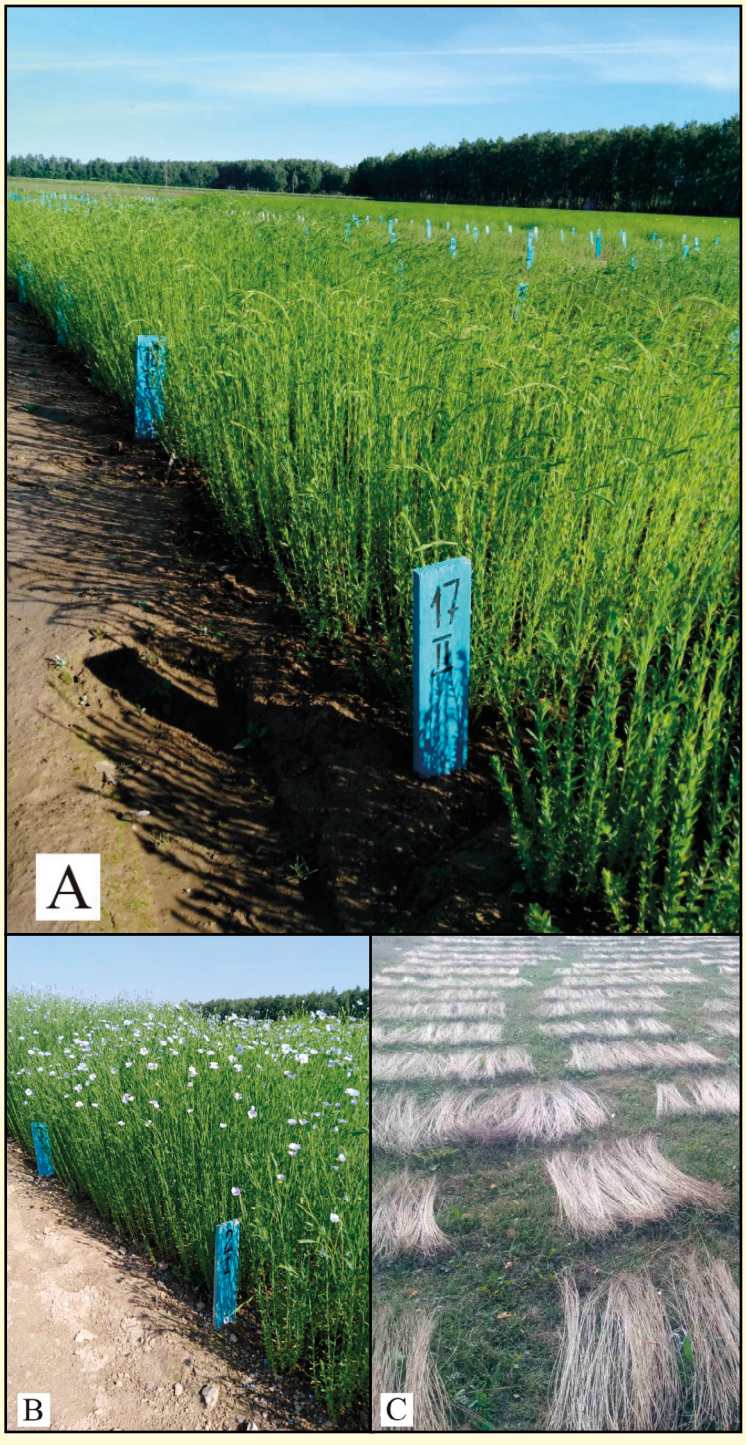
ISSN: 2658-6266 (Print)
ISSN: 2658-6258 (Online)

БИОТЕХНОЛОГИЯ И СЕЛЕКЦИЯ РАСТЕНИЙ

6(3), 2023



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

2023, 6(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: 10.30901/2658-6266-2023-3
УДК: 573.6:631.527

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

SCIENTIFIC PEER REVIEWED JOURNAL

PLANT BIOTECHNOLOGY AND BREEDING

2023, 6(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)

На обложке:
Рисунок. Период вегетации льна-долгунца и приготовление тресты
А – фаза бутонизации, В – фаза цветения, С – расстил соломы на слище

Материалы к статье: Богдан В.З., Богдан Т.М., Литарная М.А., Иванов С.А. Агроэкологическая адаптированность коллекционных образцов льна-долгунца

Cover photo:
Figure. Fiber flax growing season and retted flax preparation
A – budding stage, B – flowering stage, C – straw spreading in the retting area

Materials for the article: Bogdan V.S., Bogdan T.M., Litarnaya M.A., Ivanov S.A. Agroecological adaptedness of fiber flax specimens.

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

Биотехнология и селекция растений

2023 Том 6 № 3

DOI: 10.30901/2658-6266-2023-3
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 (Россия)

Заместители главного редактора:
Т. А. Гавриленко – д.б.н. (Россия)
И. Н. Анисимова – д.б.н. (Россия)
Л. Ю. Новикова – д.с.-х.н. (Россия)

Ответственный секретарь:
Н. А. Оськина

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

Редакционная коллегия:
Е. Е. Андронов – к.б.н. (Россия)
Д. А. Афонников – к.б.н. (Россия)
А. Х. Баймиев – д.б.н. (Россия)
И. А. Белан – к.с.-х.н. (Россия)
А. Г. Беседин – к.с.-х.н. (Россия)
М. А. Вишнякова – д.б.н. (Россия)
В. А. Гаврилова – д.б.н. (Россия)
С. В. Гаркуша – д.с.-х.н. (Россия)
Т. А. Гасанова – к.с.-х.н. (Россия)
С. В. Герасимова – к.б.н. (Россия)
М. С. Гинс – д.б.н., чл.-корр. РАН (Россия)
С. В. Гончаров – д.б.н. (Россия)
Р. О. Давоян – д.б.н. (Россия)
Я. Н. Демурин – 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 – д.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. Туруспеков – 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)

© Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 2023

ISSN 2227-8834 (Print)
ISSN 2619-0982 (Online)

Plant Biotechnology and Breeding

2023 Volume 6 No 3
DOI: 10.30901/2658-6266-2023-3
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. (Russia)

Deputy Editors-in-Chief:
T. A. Gavrilenko – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
I. N. Anisimova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
L. Yu. Novikova – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)

Executive Secretary:
N. A. Oskina

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 – Dr. 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)

© Federal Research Center
the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 2023

СОДЕРЖАНИЕ

ОТ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА 4

Е. К. Хлесткина

ВСТУПИТЕЛЬНАЯ СТАТЬЯ

РАЗВИТИЕ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ СЕЛЕКЦИИ 5

В. З. Богдан, Т. М. Богдан, М. А. Литарная, С. А. Иванов

Научная статья

Агроэкологическая адаптированность коллекционных образцов льна-долгунца

МЕТОДЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В СЕЛЕКЦИИ И СЕМЕНОВОДСТВЕ РАСТЕНИЙ 14

А. А. Асланова, А. Б. Курина

Обзорная статья

Индукция эмбриогенеза в культуре изолированных микроспор *Brassica rapa* L.

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ 25

Э. Р. Давоян, И. В. Бебякина, Р. О. Давоян, Д. М. Болдаков, Е. Д. Бадаева, И. Г. Адонина, Е. А. Салина, А. Н. Зинченко, Ю. С. Зубанова

Научная статья

Изучение линий мягкой пшеницы, полученных с участием синтетической формы Авродес, в отношении их устойчивости к жёлтой ржавчине

А. С. Лыжин, И. В. Лукъянчук 35

Научная статья

Идентификация аллелей резистентности генов *Rca2* и *Rpf1* у селекционных форм земляники садовой межсортового гибридного происхождения

CONTENTS

FROM THE EDITOR IN CHIEF 4

E. K. Khlestkina

INTRODUCTORY ARTICLE

DEVELOPMENT OF MODERN BREEDING METHODS 5

V. S. Bogdan, T. M. Bogdan, M. A. Litarnaya, S. A. Ivanov

Original article

Agroecological adaptedness of fiber flax specimens

BIOTECHNOLOGY TECHNIQUES IN PLANT BREEDING AND SEED PRODUCTION 14

A. A. Aslanova, A. B. Kurina

Review article

Induction of embryogenesis in *Brassica rapa* L. isolated microspore culture

STUDY OF PLANT GENETIC RESOURCES USING MOLECULAR GENETICS METHODS 25

E. R. Davoyan, I. V. Bebyakina, R. O. Davoyan, D. M. Boldakov, E. D. Badaeva, I. G. Adonina, E. A. Salina, A. N. Zinchenko, Yu. S. Zubanova

Original article

A study of bread wheat lines from crosses with the synthetic form Avrodes in regard to their yellow rust resistance

A. S. Lyzhin, I. V. Luk'yanchuk 35

Original article

Identification of *Rca2* and *Rpf1* resistance alleles in strawberry breeding forms of intervarietal hybrid origin

Уважаемые читатели!

В текущем выпуске мы представляем вашему вниманию результаты исследований в области молекулярной селекции и агроэкологии, которые могут быть интересны практикующим селекционерам. В первую очередь хотим обратить внимание на новые разработки, которые могут использоваться в селекционных программах, нацеленных на создание сортов, устойчивых к болезням.

В работе Э.Р. Давояна с соавторами описаны результаты изучения линий мягкой пшеницы, полученных с использованием синтетической формы пшеницы, созданной ранее с участием *Aegilops speltoides* Tausch. В ходе исследования удалось отобрать и охарактеризовать интрогрессивные линии, потенциально несущие новые гены устойчивости к жёлтой ржавчине.

Вниманию читателей представлена также работа в области молекулярной селекции земляники (авторы: А.С. Лыжин и И.В. Лукъянчук). С использованием диагностических маркеров к генам *Rca2* (устойчивость к антракнозу) и *Rpf1* (устойчивость к фитофторозу) среди селекционных форм межсортового гибридного происхождения удалось выявить генотипы, несущие аллели генов *Rca2* (15 селекционных форм) и *Rpf1* (пять селекционных форм), обеспечивающие резистентность к изучаемым заболеваниям.

Следующая работа была направлена на селекцию льна-долгунца на способность противостоять действию факторов среды, снижающих продуктивность и качество продукции. В результате комплексной оценки коллекционных образцов льна-долгунца В.З. Богдан с соавторами выделили тринадцать образцов, характеризующихся высокой оценкой агроэкологической адаптированности по признакам урожайности длинного волокна и его качества.

Обзорная статья А.А. Аслановой и А.Б. Куриной посвящена вопросу индукции эмбриогенеза в культуре изолированных микроспор *Brassica rapa* L. – важному направлению, нацеленному на увеличение выхода удвоенных гаплоидов, используемых в качестве исходного материала при создании новых сортов и гибридов. В статье обобщены и проанализированы сведения об имеющихся протоколах получения удвоенных гаплоидов *B. rapa* и выявленных факторах, позволяющих повысить индукцию эмбриогенеза в культуре изолированных микроспор *in vitro*.

Главный редактор,
профессор РАН
Е.К. Хлесткина

Научная статья
УДК 633.521:631.527:631.524.85
DOI: 10.30901/2658-6266-2023-3-o2

(cc) BY

Агроэкологическая адаптированность коллекционных образцов льна-долгунца

В. З. Богдан, Т. М. Богдан, М. А. Литарная, С. А. Иванов

Республиканское научное дочернее унитарное предприятие «Институт льна», Витебская область, Республика Беларусь

Автор, ответственный за переписку: Виктор Зигмундович Богдан, bogdan_v@tut.by

Важнейшее требование, которому должны соответствовать перспективные сорта – адаптивность, то есть способность противостоять действию факторов среды, снижающих продуктивность и качество продукции. Для создания таких сортов требуется постоянный поиск источников и доноров стабильно проявляющихся хозяйственно-ценных признаков. С этой целью дана оценка агроэкологической адаптированности и её составляющих 42 коллекционных образцов льна-долгунца по одним из самых ценных признаков – урожайности длинного волокна и его номеру. Установлены достоверные различия ($P_{0,05}$) между образцами по данным признакам. Средняя урожайность длинного волокна составила 87,9 г/м^2. У 23 образцов урожайность превысила среднее значение. Максимальную урожайность длинного волокна сформировали российские образцы ‘Тонус’ (130,6 г/м^2) и ‘Норд’ (128,3 г/м^2), которые также имели максимальные значения индекса урожайности длинного волокна (42,7 и 40,4 г/м^2) соответственно.

Средний номер длинного трёпаного волокна составил 10,1. Двадцать четыре образца характеризовались более высокими значениями этого показателя. Максимальный номер длинного трёпаного волокна за три года (11,3) имели белорусские сорта ‘Алей’ и ‘Могилёвский’, у которых также отмечены максимальные индексы по номеру длинного трёпаного волокна (1,2).

Высокой степенью отзывчивости на улучшения условий среды, выражавшейся в повышении урожайности длинного волокна (R_i) характеризовались сорта ‘Алей’, ‘Тонус’, ‘Сурский’, ‘Цезарь’ (соответственно 39,4%, 35,4%, 32,9%, 32,2%); по признаку номер длинного трепаного волокна – образцы ‘Сальдо’ × ‘Родник’ (R_i=19,8%), ‘Сурский’, ‘Venus’, ВИР-14, ВИР-12, (R_i=16,5%).

Низкой отзывчивостью на неблагоприятные факторы в отношении урожайности длинного волокна характеризовались образцы Vera (D_i= –7,14%), Батист (D_i= –7,69%), ВИР-15 (D_i= –10,64%). Неблагоприятные условия среды не привели к снижению номера длинного трёпаного волокна у образцов ‘Добрыня’, ‘Дипломат’, ‘Поліській 4’, ВИР-13, ‘Львовскій 8’, ‘Есмань’, ‘Міандр’ (D_i,%=0,0). Высоко отзывчивыми на стрессовые факторы в отношении урожайности длинного волокна были образцы ‘Тонус’ (D_i= –44,3%), ‘Цезарь’ (D_i= –43,8%), ‘Lino de fibra’ (D_i= –42,1%), China 1 TMP1919 (D_i= –41,8%), Горизонт (D_i= –40,9%). Резкое снижение номера длинного трёпаного волокна при неблагоприятных факторах наблюдали у образцов ‘Kaliakra’, ВИР-17, ‘Venus’, ‘Сурский’ (D_i= –27,7%).

Выделены тринадцать коллекционных образцов, получивших высокие оценки агроэкологической адаптированности в отношении урожайности длинного волокна и его номера. Белорусский сорт ‘Алей’, литовские образцы В-192, ‘В-168’ и российский образец ‘Добрыня’ вошли в первую группу с высокой степенью агроэкологической адаптированности в отношении изучаемых признаков.

***Ключевые слова*:** селекция, лён-долгунец, урожайность длинного волокна, номер длинного трёпаного волокна, адаптивность

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственной программы «Наукоемкие технологии и техника», подпрограмма 4 «Мобилизация и рациональное использование генетических ресурсов растений национального банка для селекции, обогащения культурной и природной флоры Беларуси» на 2016-2020 годы, Задание 04: Пополнить генофонд культурного льна, обеспечить его изучение, документирование и рациональное использование в селекции.

Для цитирования: Богдан В.З., Богдан Т.М., Литарная М.А., Иванов С.А. Агроэкологическая адаптированность коллекционных образцов льна-долгунца. *Биотехнология и селекция растений*. 2023;6(3):5-13. DOI: 10.30901/2658-6266-2023-3-o2

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

© Богдан В.З., Богдан Т.М., Литарная М.А., Иванов С.А., 2023

Original article
DOI: 10.30901/2658-6266-2023-3-o2

Agroecological adaptedness of fiber flax specimens

Viktor Z. Bogdan, Tatyana M. Bogdan, Marina A. Litarnaya, Sergey A. Ivanov

Institute of Flax, Vitebsk region, Republic of Belarus

Corresponding author: Viktor S. Bogdan, bogdan_v@tut.by

The most important requirement to be met by promising varieties is adaptability, i. e., the ability to resist environmental factors that reduce productivity and product quality. To create such varieties, a constant search for sources and donors of consistently manifested economically valuable traits is required. For this purpose, agroecological adaptedness and its components were assessed for 42 fiber flax specimens with respect to the most important features, namely the yield of flax fiber and its number. Significant differences ($P_{0.05}$) between the specimens concerning these characteristics were established. The average fiber yield in the study was 87.9 g/m^2. In 23 specimens, the yield exceeded the average value. The maximum fiber yield was recorded for the Russian specimens 'Tonus' (130.6 g/m^2) and 'Nord' (128.3 g/m^2). These specimens had the highest long fiber yield (42.7 and 40.4 g/m^2), respectively. The average number of the scutched long fiber in the study was 10.1. This value exceeded the average one in 24 specimens. The Belarusian varieties 'Alej' and 'Mogilyovskij' had the maximum number of the scutched long fiber for three years (11.3), and also maximum indices (1.2) concerning the number of the scutched long fiber.

A high degree of responsiveness to improved environmental conditions (Ri) expressed as an increase in the long fiber yield was demonstrated by the varieties 'Alej', 'Tonus', 'Surskij', 'Cezar' (Ri = 39.4%, 35.4%, 32.9%, 32.2% respectively), and that expressed in the number of the long scutched fiber was displayed by specimens 'Sal'do' × 'Rodnik' (Ri=19.8%), 'Surskij', 'Venus', VIR-14, and VIR-12, (Ri=16.5%).

The specimens Vera (D_i= –7.14%), Batist (D_i= –7.69%), and VIR-15 (D_i= –10.64%) were characterized by low responsiveness to unfavorable factors in respect of the long fiber yield. Such conditions did not cause a decrease in the number of the long scutched fiber in the specimens 'Dobrynya', 'Diplomat', 'Polisky 4', VIR-13, 'L'vovskij 8', 'Esman', and 'Miander' (D_i,%=0.0). The specimens 'Tonus' (D_i= –44.3%), 'Cezar' (D_i= –43.8%), 'Lino de fibra' (D_i= –42.1%), China 1 TMR1919 (D_i= –41.8%), Gorizont (D_i=–40,9%) were highly responsive to stress factors in terms of fiber yield. A sharp decrease in the number of the long scutched fiber under unfavorable factors was observed for specimens 'Kaliakra', VIR-17, 'Venus', and 'Sursky' (D_i= –27,7%).

Thirteen specimens received high ratings of agroecological adaptedness in terms of the yield of fibre and its number. The Belarusian variety 'Alej', Lithuanian specimens B-192, B-168 and the Russian 'Dobrynya' were included in the first group with a high degree of agroecological adaptedness with respect to the studied characteristics.

Keywords: breeding, fiber flax, long fiber yield, number of the long scutched fiber, adaptability

Acknowledgments: The work was carried out within the framework of Subprogram 4 "Mobilization and rational use of plant genetic resources of the national bank for breeding and enrichment of the cultivated and natural flora of Belarus" of the State Program "Science-intensive technologies and engineering" for 2016-2020, Task 04: To replenish the gene pool of cultivated flax, ensure its study, documentation and rational use in breeding.

For citation: Bogdan V.Z., Bogdan T.M., Litarnaya M.A., Ivanov S.A. Agroecological adaptedness of fiber flax specimens. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2023;6(3):5-13. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2023-3-o2

Financial transparency. The authors have no financial interest in the presented materials or methods. The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employers.

© Bogdan V.Z., Bogdan T.M., Litarnaya M.A., Ivanov S.A., 2023

Введение

В ближайшем будущем прогресс в сельском хозяйстве определит совершенствование адаптации агросистем к варьирующим во времени и пространстве факторам внешней среды. Для этих направлений селекции характерна агроэкологическая адресность, связанная с большей приспособленностью новых сортов и гибридов к местным условиям, а также наукоёмким технологиям возделывания. Их главная отличительная способность – сочетание высокой потенциальной продуктивности (величины и качества урожая) с устойчивостью к наиболее распространённым в регионе абиотическим и биотическим стрессорам, а также доминирование влияния генотипа по отношению к действию нерегулируемых факторов внешней среды (Zhuchenko, 2004). Эффективность такой селекции достигается благодаря применению различных приёмов оценки экологической пластичности, которые неодинаковы по сложности и интерпретации полученных результатов. В частности, разработан комплексный показатель оценки агроэкологической адаптированности генотипа к меняющимся условиям. Это особо актуально сегодня в свете участившихся в последние годы засух и тренда глобального потепления климата. Такая разработка необходима селекционным центрам для объективной оценки генофонда культурных растений в конкретных условиях, подбора исходного материала по разнообразию откликов и отбора сортов в селекционном процессе на этапе конкурсного испытания (Kincharov et al., 2022).

В массовом производстве реализуется лишь 50-60% генетического потенциала допущенных к использованию сортов. Главная причина этого – недостаточный уровень адаптивности районированных сортов, которые выступают в качестве решающего фактора реализации потенциальной продуктивности в нерегулируемых условиях среды (Goncharenko, 2005).

Максимальное использование генетических ресурсов, создание и внедрение адаптивных сортов, является главным и наиболее доступным при переходе к адаптивному растениеводству (Zhuchenko, 2003).

Лён-долгунец – традиционная национальная прядильная культура Беларуси, с которой связаны история и быт народа. В условиях формирования экономических связей нового уровня, у нашей страны имеются предпосылки занять достойное место на мировом рынке льнопродукции. Для реализации этой возможности необходимо повысить её конкурентоспособность. В решении этой задачи главную роль следует отводить не расширению посевных площадей под лён, требующих значительных капитальных вложений, а поиску снижения себестоимости льнопродукции, и в первую очередь, за счёт повышения урожайности и качества.

В выполнении задач, стоящих перед льноводством Республики Беларусь по увеличению урожайности, улучшению качества льнопродукции и стабильности урожая, важная роль принадлежит новым сортам, адаптированным к наиболее распространенным в регионе абиотическим и биотическим стрессорам.

За период 2012-2022 годов в Республике Беларусь районировано 15 сортов льна-долгунца отечественной селекции: ‘Грант’ (2014 г.), ‘Лада’ (2015 г.), ‘Мара’ (2016 г.), ‘Маяк’, ‘Рубин’ (2017 г.), ‘Дукат’, ‘Талер’ (2019 г.), ‘Алтын’ (2020 г.), ‘Эверест’ (2022 г.) – оригинатор Республиканское унитарное предприятие (РУП) «Институт льна», а также ‘Ветразь’ (2017 г.), ‘Малахит’ (2019 г.), ‘Днепровский’, ‘Стойкий’, ‘Надёжный’ (2021 г.), ‘Рубеж’ (2022 г.) – оригинатор РУП «Могилёвская областная сельскохозяйственная опытная станция НАН Беларуси» (State Register, 2022). По данным трёхлетнего государственного сортоиспытания в различных агрометеорологических условиях, у представленных сортов средняя урожайность длинного волокна составила 8,5 ц/га и средний номер длинного трёпаного волокна[1] – 11,4. Максимальный номер длинного трёпаного волокна 12,5 и 12,3 имели сорта ‘Грант’ и ‘Маяк’ соответственно. Потенциал новых сортов льна-долгунца отечественной селекции позволяет в условиях производства при тщательном соблюдении всех агротехнических мероприятий получать до 60 ц/га тресты́, 15-20 ц/га льноволокна и до 10 ц/га семян (Results of testing of varieties, 2022).

Однако, сложившаяся в последние годы ситуация свидетельствует о снижении уровня биологического разнообразия и деградации генетических ресурсов растений, пригодных для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства, что происходит из-за глобального изменения климата и неуклонного усиления антропогенного прессинга на природные экосистемы. Поэтому сохранение, изучение и эффективное использование генофонда растений в большинстве стран мира рассматриваются как наиболее актуальная национальная задача, которая служит основой успеха в развитии устойчивого сельскохозяйственного производства. Благодаря разнообразию генетических ресурсов, сельскохозяйственные культуры и сорта оказываются приспособленными к постоянно меняющимся условиям среды и способными преодолевать проблемы, создаваемые вредителями, болезнями и абиотическими стрессорами. Сохранение, рациональное использование, справедливое и равноправное совместное участие в выгодах от использования гене-

---

Примечание редактора: «Номер волокна» – это число, характеризующее трёпаное и чёсаное волокно, которое используется при оценке льняного волокна в республиках бывшего Советского Союза. Определяется экспертами органолептически, с учетом длины, цвета, яркости, тонкости, гибкости и прочности волокна в пределах от №3, наименьшего номера (волокно самого низкого качества – короткое, неблестящее, грубое) до №32, наивысшего номера (высококачественное волокно – длинное, мягкое, яркое и тонкое)/ Editor's note: The ‘number of fiber’ is a number characterizing the scutched and hackled fiber, which is used in flax fiber assessment in republics of the former Soviet Union. It is determined organoleptically by experts, considering the length, color, brightness, fineness, flexibility, and strength of fiber in the range from No.3, the lowest number (the lowest quality fiber – short, not bright, and rough), to No.32, the highest number (high quality fiber – long, soft, bright, and thin).

тических ресурсов являются предметом международной заинтересованности и насущной необходимостью (Privalov et al., 2020).

Основными приоритетами селекции полевых культур в Беларуси на данном этапе нами определены: повышение адаптивного потенциала устойчивости к абиотическим и биотическим стрессовым факторам в сочетании с высокой продуктивностью, качеством продукции, ресурсоэффективностью и экологической безопасностью. Для их реализации предусматривается работа по таким направлениям, как создание систем адаптивных взаимодополняющих сортов: адаптивных к условиям изменения климата с широкой нормой генотипической реакции; высокопродуктивных для интенсивного растениеводства и точного земледелия; экологически безопасных для системы органического земледелия и сортов целевого назначения для производства разнообразных специализированных видов продукции (Grib, 2017).

Основным источником хозяйственно-ценных признаков льна-долгунца при создании нового селекционного материала является генофонд национальной коллекции, которая на 2022 год включает свыше 630 образцов из 33 стран мира. Коллекционный материал ежегодно всесторонне изучается по комплексу хозяйственно-ценных признаков. В последние десятилетия, в связи с более частым проявлением экстремальных погодных явлений, включая периоды жары, засух и ливней, актуальным является комплексная оценка, учитывающая отзывчивость образцов на улучшение агроклиматических условий и степень их реакции на неблагоприятные факторы среды с учётом индекса урожайности в изучаемом наборе (Bogdan et al., 2022; Litarnaya, Bogdan, 2022).

При этом уже на этапе подбора родительских форм для скрещиваний надо учитывать, что не любое разнообразие сортов является эффективным, а лишь то, которое в ответах на критические погодные явления может повысить устойчивость к изменению климата (Kahiluoto et al., 2014) и даёт практические средства для повышения устойчивости и адаптации к изменению климата сортов не только продовольственных, но и кормовых культур (Mäkinen et al., 2015).

Целью исследований являлась оценка агроэкологической адаптированности и её составляющих у коллекционных образцов льна-долгунца.

Материал и методы

В течение 2018-2020 годов испытывали 42 коллекционных образца различного эколого-географического происхождения. Закладку рабочей коллекции, учёты, наблюдения, уход, уборку проводили согласно методическим указаниям по изучению коллекции льна (Bogdan et al., 2011). Агроэкологическую адаптированность оценивали по двум основным показателям, определяющим ценность образцов льна-долгунца – урожайности длинного волокна и комплексному показателю, характеризующему качество длинного трёпаного волокна – номеру (Arno et al., 1961).

При анализе элементов структуры урожая вычисляли средние величины признаков и их доверительные интервалы, рассчитанные при уровне значимости 0,05. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили методом дисперсионного анализа (Dospekhov, 1985) с использованием программного обеспечения Microsoft Excel 2010.

Метеорологические условия в годы проведения исследований различались по гидротермическому режиму, что позволило объективно оценить агроэкологическую адаптированность образцов льна-долгунца.

Почва опытного участка дерново-подзолистая, развивающаяся на среднем лёссовидном суглинке, подстилаемом с глубины 1 м мореной. Пахотный горизонт почвы имел следующие агрохимические показатели: содержание гумуса (по Тюрину) 1,95%, pH_{KCL} – 5,6, содержание P_2O_5 – 235,6 мг/кг почвы; K_2O – 113,8 мг/кг почвы.

Для создания сортов с уменьшением риска существенного снижения урожайности волокна в неблагоприятные годы и достижения высоких показателей в благоприятных условиях использован комплексный показатель оценки агроэкологической адаптированности генотипа к лимитирующим факторам (DAA_i), который рассчитывали путем сложения трех показателей – относительного индекса урожайности волокна образца (I_i,%), степени отзывчивости (R_i%) на благоприятные условия и степени депрессии урожайности волокна образца (сорта) (D_i,%) (Kincharov et al., 2022).

Результаты и обсуждение

В течение вегетационного периода проведены фенологические наблюдения за коллекционными образцами льна-долгунца с фиксированием дат наступления основных фаз в процессе роста и развития растений, учтены и проанализированы устойчивость к основным болезням льна (фузариозное увядание, пасмо, бактериоз и другие) и полеганию. Проведён надлежащий уход за посевами коллекционного питомника. После теребления льна-долгунца и обмолота его семян, льносолому расстилают на стлище для получения льнотресты (рисунок).

Установлены достоверные различия ($P_{0,05}$) между образцами по урожайности длинного волокна и его номеру. Средняя урожайность длинного волокна в опыте составила 87,9 г/м^2. Максимальной урожайностью длинного волокна характеризовались российские образцы ‘Тонус’ (130,6 г/м^2) и ‘Норд’ (128,3 г/м^2). Средний номер длинного трёпаного волокна в опыте составил 10,1. Максимальный номер длинного трёпаного волокна (11,3) обеспечивали белорусские сорта ‘Алей’ и ‘Могилёвский’ (табл. 1).

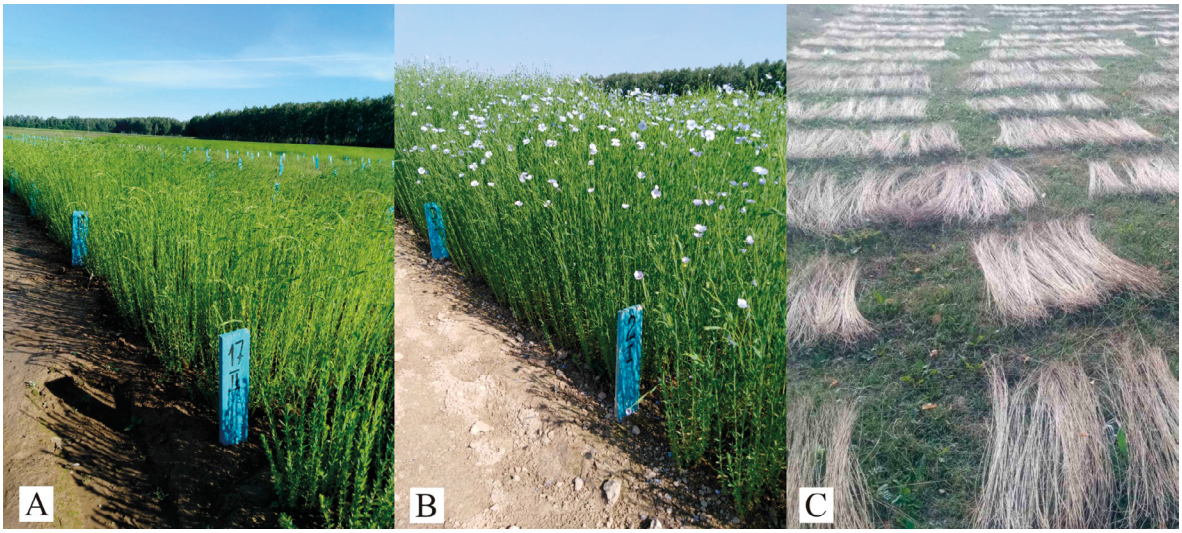


Рисунок. Период вегетации льна-долгунца и приготовление тресты
А – фаза бутонизации, В – фаза цветения, С – расстил соломы на стлище

Figure. Fiber flax growing season and retted flax preparation
A – budding stage, B – flowering stage, C – straw spreading in the retting area

Таблица 1. Урожайность длинного волокна и его номер коллекционных образцов льна-долгунца (2018-2020 годы)

Table 1. Long fiber yield and fiber number of fiber flax specimens (2018-2020)

Образец / Specimen	Урожайность длинного волокна, г/м² Long fiber yield, g/m²					Номер длинного трёпаного волокна Number of the long scutched fiber				
	2018	2019	2020	среднее mean	$I_{i,}$	2018	2019	2020	среднее mean	I_i
‘Алей’/ ‘Alej’	87,8	96,7	144,2	109,5	21,6	11,0	12,0	11,0	11,3	1,2
‘Могилёвский’/ ‘Mogilyovskij’	90,0	105,8	123,3	106,4	18,5	11,0	12,0	11,0	11,3	1,2
В-192	91,7	128,3	116,7	112,2	24,3	10,0	12,0	10,0	10,7	0,6
‘Норд’/ ‘Nord’	96,7	136,7	151,7	128,3	40,4	11,0	11,0	10,0	10,7	0,6
‘Добрыня’/ ‘Dobrynya'	93,3	115,0	133,3	113,9	26,0	11,0	11,0	11,0	11,0	0,9
‘Дипломат’/ ‘Diplomat’	101,7	125,0	130,0	118,9	31,0	10,0	10,0	10,0	10,0	–0,1
ВИР-13/ VIR-13	90,0	88,3	103,3	93,9	6,0	11,0	11,0	11,0	11,0	0,9
‘Есмань’/ ‘Esman’	100,0	116,7	111,7	109,4	21,5	10,0	10,0	10,0	10,0	–0,1
В-168	106,7	120,0	101,7	109,4	21,5	10,0	12,0	10,0	10,7	0,6
‘Союз’/ ‘Soyuz’	86,7	103,3	86,7	92,2	4,3	10,0	12,0	10,0	10,7	0,6
‘Тонус’/ ‘Tonus’	90,0	161,7	140,0	130,6	42,7	10,0	10,0	11,0	10,3	0,2
‘Сальдо’ × ‘Родник’/ ‘Sal'do’ × ‘Rodnik’	86,7	101,7	120,0	102,8	14,9	10,0	13,0	10,0	11,0	0,9
Средняя / Mean	77,1	93,8	92,7	87,9		9,8	10,8	9,8		
$НСР_{0,05/}$ LSD	3,9	4,7	4,5			0,5	0,6	0,5		
Ij, g/m²	–10,8	5,9	4,8			–0,3	0,7	–0,3		

Примечание: I_i – Индекс урожайности, г/м² и номера волокна образца;
I_j – Индекс условий года по урожайности, г/м² и номеру волокна образца
Note: I_i – Yield index, g/m² and fiber number of a specimen;
I_j – Index of the year conditions with respect to the yield, g/m² and fiber number of a specimen.

Важным и ценным показателем при оценке агроэкологической адаптированности образцов с определенным генотипом является индекс урожайности образца (сорта) (I_i), определяемый как разность средней урожайности образца и средней урожайности в опыте (выражено в тех же единицах, что и урожайность). Образцы российских сортов 'Тонус' и 'Норд' имели максимальные значения индекса урожайности длинного волокна (42,7 г/м^2 и 40,4 г/м^2) соответственно. Максимальный индекс номера длинного трёпаного волокна (1,2) был у белорусских сортов 'Алей' и 'Могилёвский' (см. табл. 1).

Аналогично определяется и индекс условий года (I_j) – разность средней урожайности образца (сорта) за год и его средней урожайности в опыте. Данный показатель необходим для анализа условий года и оценки реакции образцов на них. Условия для формирования урожая длинного волокна были неблагоприятными в 2018 году (I_j= –10,8 г/м^2); 2019 и 2020 годы характеризовались как благоприятные: данный показатель составил 5,9 г/м^2 и 4,8 г/м^2, соответственно. Для формирования высокого качества длинного волокна благоприятным был 2019 год (I_j = 0,7). В 2018 и 2020 годах условия оказались менее благоприятными (I_j = –0,3) (см. табл. 1).

Базовым показателем для дальнейших расчётов является относительное значение индекса урожайности сорта (I_i,%), определяемое как отношение разности средней урожайности образца и средней урожайности в опытном варианте к средней урожайности в опыте, выраженное в процентах. Отрицательное значение показателя свидетельствует о том, что образец по продуктивности в анализируемых условиях уступает среднему значению в опыте, а при положительном значении превосходит его. В изучаемой выборке 54,8% образцов превосходили средние значения в опытных вариантах по урожайности длинного волокна и 57% – по номеру длинного трёпаного волокна. Высокий индекс урожайности длинного волокна имели образцы российских сортов 'Тонус' (48,5%) и 'Норд' (46,0%), по номеру длинного трёпаного волокна выделились белорусские сорта 'Алей' и 'Могилёвский' с показателем 12,2% (табл. 2).

Таблица 2. Агроэкологическая адаптированность и её составляющие у коллекционных образцов льна-долгунца (средние в 2018-2020 годах)

Table 2. Agroecological adaptedness and its components in fiber flax specimens (averages for 2018-2020)

Образец/ Specimen	Урожайность длинного волокна, г/м^2 Long fiber yield, g/m^2					Номер длинного трёпаного волокна Number of the long scutched fiber				
	I_i,%	R_i,%	D_i,%	DAA_i,%	Ранг	I_i,%	R_i,%	D_i,%	DAA_i,%	Ранг
'Алей' (к.)/ 'Alej'	24,6	39,4	–39,1	24,9	1	12,2	6,6	–8,3	10,5	1
'Могилёвский' (к.)/ 'Mogilyovskij'	21,0	19,3	–27,0	13,3	2	12,2	6,6	–8,3	10,5	1
'Lino de fibra'.	–46,9	19,0	–42,1	–70,1	5	–14,2	13,0	–20,0	–21,0	5
'Kaliakra'/ 'Калиакра'	–5,8	17,7	–32,2	–20,3	3	–4,3	13,2	–27,3	–18,4	5
В-192	27,7	18,3	–28,6	17,4	1	5,6	13,2	–16,7	2,2	1
SV 661654,79-39725	–45,7	12,1	–37,1	–70,8	5	–20,8	0,00	0,0	–20,8	5
'Норд'/ 'Nord'	46,0	26,6	–36,3	36,3	1	5,6	3,3	–9,1	–0,2	2
'Добрыня'/ 'Dobrynya'	29,6	22,1	–30,0	21,7	1	8,9	0,0	0,0	8,9	1
'Дипломат'/ 'Diplomat'	35,3	12,6	–21,8	26,1	1	–1,0	0,0	0,0	–1,0	2
В-150/ B-150	2,4	9,5	–23,7	–11,9	3	8,9	9,9	–16,7	2,2	1
'Поліський 4' / 'Polisky 4'	–33,0	10,7	–39,0	–61,3	5	–1,0	0	0,0	–1,0	2
Батист/ Batist	–5,8	4,4	–7,7	–9,1	3	2,3	7,0	–9, 1	–0,2	2
ВИР-12/ VIR-12	–31,1	16,4	–35,6	–50,2	5	2,3	17,0	–25,0	–6,2	3
ВИР-13/ VIR-13	6,8	10,7	–14,5	3,0	2	8,9	0,0	0,0	8,9	1
ВИР-14/ VIR-14	–13,4	10,1	–23,5	–26,8	4	2,3	17,0	–25,0	–6,2	3
ВИР-15/ VIR-15	–17,2	6,3	–10,6	–21,5	3	2,3	7,0	–9,1	–0,2	2
ВИР-17/ VIR-17	–23,5	10,7	–30,4	–43,2	4	–1,0	9,9	–27,3	–18,4	5
'Львовскій 6'/ 'L'vovskij 6'	–48,2	3,2	–20,7	–65,7	5	–14,2	3,1	–11,1	–22,2	5

Образец/ Specimen	Урожайность длинного волокна, г/м² Long fiber yield, g/m²					Номер длинного трёпаного волокна Number of the long scutched fiber				
	I_i,%	R_i,%	D_i,%	DAA_i,%	Ранг	I_i,%	R_i,%	D_i,%	DAA_i,%	Ранг
‘Львовскій 8’/ ‘L'vovskij 8’	–33,0	12,6	–38,1	–58,5	5	–1,0	0	0,0	–1,0	2
‘Есмань’./ ‘Esman’	24,5	8,2	–14,3	18,4	1	–1,0	0,0	0,0	–1,0	2
‘Міандр’/ ‘Miander’	–9,6	25,3	–39,3	–23,7	3	–1,0	0	0,0	–1,0	2
В-168	24,5	12,0	–15,3	21,2	1	5,6	13,2	–16,7	2,2	1
‘Venus’	–20,4	9,5	–25,5	–36,4	4	–7,6	17,0	–27,3	–18,4	5
‘Сурский’/ ‘Surskij’	20,7	32,9	–34,6	19,0	1	–7,6	17,0	–27,3	–18,4	5
‘Союз’/ ‘Soyuz’	4,9	12,6	–16,1	1,4	2	5,6	13,2	–16,7	2,2	1
‘Тонус’/ ‘Tonus’	48,5	35,4	–44,3	39,6	1	2,3	6,6	–9,1	–0,2	2
China 1 TMP1919	–2,7	29,7	–41,8	–14,8	3	8,9	10,0	–16,7	2,1	1
‘Цезарь’/ ‘Cezar’’	19,5	32,2	–43,8	7,9	2	2,3	7,0	–9,1	–0,2	2
Горизонт/ Gorizont	33,4	24,0	–41,0	16,4	2	–1,0	10,0	–18,2	–9,3	4
‘Сальдо’ × ‘Родник’ ‘Sal’do’ × ‘Rodnik’	16,9	19,6	–27,8	8,7	2	8,9	19,8	–23,1	5,6	1
Vera	–22,5	2,1	–7,1	–27,5	4	–4,3	13	–18,2	–9,3	4

Примечание: I_i% – относительный индекс урожайности образца; R_i% – степень отзывчивости образца; D_i% – степень депрессии урожайности образца; DAA_i – степень агроэкологической адаптированности образца
Note: I_i% – relative yield index of a specimen; R_i% – degree of specimen responsiveness; D_i% – degree of yield depression in a specimen; DAA_i – degree of agroecological adaptedness of a specimen

Важным показателем адаптивности и пластичности, хозяйственной ценности и приспособленности сорта к определенным агроэкологическим условиям среды является его отзывчивость на благоприятные условия (R_i,%). Степень отзывчивости сорта на благоприятные условия среды в изучаемом наборе образцов определяли как отношение разности урожайности в благоприятный год и средней урожайности образца к средней урожайности в опыте в неблагоприятный год, выраженное в процентах. Высокой степенью отзывчивости на улучшения условий среды, проявляющейся как повышение урожайности длинного волокна, характеризовались сорта ‘Алей’ (R_i=39,4%), ‘Тонус’ (R_i=35,4%), ‘Сурский’ (R_i=32,9%), ‘Цезарь’ (R_i=32,2%); по признаку номер длинного трепаного волокна – образцы ‘Сальдо’ × ‘Родник’ (R_i=19,8%), ВИР-12, ВИР-14, ‘Venus’, ‘Сурский’ (R_i=17%) (см. табл. 2).

Немаловажное значение в агроклиматических условиях зоны проведения исследований имеют показатели, характеризующие устойчивость сорта к комплексу неблагоприятных факторов внешней среды. Одним из наиболее информативных критериев оценки в данном случае является показатель депрессии урожайности волокна в ответ на неблагоприятные факторы (D_i,%), который находят как отношение разности урожайности образца в неблагоприятный и благоприятный годы к урожайности в благоприятный год, выраженное в процентах (Kincharov et al., 2022).

Низкой отзывчивостью на неблагоприятные факторы в отношении урожайности длинного волокна характеризовались образцы Vera (D_i= –7,1%), Батист (D_i= –7,7%), ВИР-15 (D_i= –10,6%). Неблагоприятные условия среды не привели к снижению номера длинного трёпаного волокна у образцов SV 661654,79-39725, ‘Добрыня’, ‘Дипломат’, ‘Поліській 4’, ВИР-13, ‘Львовскій 8’, ‘Есмань’, ‘Міандр’ (D_i,%=0,0). Высоко отзывчивыми на стрессовые факторы в отношении выхода длинного волокна были образцы ‘Тонус’ (D_i= –44,3%), ‘Цезарь’ (D_i= –43,8%), ‘Lino de fibra’ (D_i= –42,1%), China 1 TMP1919 (D_i= –41,8%), Горизонт (D_i= –41%). Резкое снижение номера длинного трёпаного волокна при неблагоприятных факторах наблюдали у образцов ‘Kaliakra’, ВИР-17, ‘Venus’, ‘Сурский’ (D_i= –27,3%) (см. табл. 2).

Значения агроэкологической адаптированности сортов (DAA_i,%) по урожайности длинного волокна в группе ранжированных образцов находились в интервале от +39,6% (‘Тонус’) до –70,8% (SV 661654,79-39725). Данный диапазон был разбит на пять групп. Для этого были рассчитаны интервалы для групп методом сложения модулей минимального и максимального значения агроэкологической адаптированности генотипа и последующего деления полученного значения на пять. В первую группу с высокой агроэкологической адаптированностью вошли образцы ‘Алей’, В-192, ‘Норд’, ‘Добрыня’, ‘Дипломат’, ‘Есмань’, В-168, ‘Сурский’, ‘Тонус’.

По номеру длинного трёпаного волокна значения агроэкологической адаптированности варьировали от +10,5% (‘Алей’, ‘Могилёвский’) до –22,2% (‘Львовскій 6’). В первую группу с высокой агроэкологической

адаптированностью по этому показателю вошли сорта ‘Алей’, ‘Могилёвский’, ‘Добрыня’, ‘Союз’ и образцы В-192, , В-150, ВИР-13, В-168, China 1 TMP1919, ‘Сальдо’ × ‘Родник’.

Таким образом, тринадцать коллекционных образцов характеризовались высокой оценкой агроэкологической адаптированности по признакам урожайности длинного волокна и его номеру (1 и 2 ранг по двум признакам). Белорусский сорт ‘Алей’, литовские образцы В-192, В-168 и российский сорт ‘Добрыня’ вошли в первую группу с высокой степенью агроэкологической адаптированности по изучаемым признакам. За годы исследований по ряду хозяйственно-ценных признаков выделились следующие образцы: сорт ‘Алей’ – по семенной продуктивности; образец В-192 характеризовался коротким периодом вегетации; образец В-168 отличался высокорослостью и урожайностью по соломе и тресте; сорт ‘Добрыня’ – высоким содержанием общего и длинного волокна в тресте.

Заключение

Оценка агроэкологической адаптированности генотипов льна-долгунца позволила объективно изучить коллекционный материал по степени приспособленности к условиям возделывания. При этом значения агроэкологической адаптированности и составляющих её элементов дали комплексное представление о характеристиках изучаемых образцов по наиболее важным показателям отзывчивости и стрессоустойчивости растений, и объективное представление о разнообразии отзывчивости генотипов на изменения условий среды.

References/Литература

Arno A.A., Grashchenko M.G., Shikov S.A. Methodology of technological assessment of flax and hemp products. Moscow; 1961. [In Russian] (Арно А.А., Гращенко М.Г., Шиков С.А. Методики технологической оценки продукции льна и конопли. Москва; 1961).

Bogdan V.Z, Bogdan T.M., Litarnaya M.A., Ivanov S.A. Evaluation of fibre flax varieties with regard to adaptability parameters in the conditions of the Republic of Belarus. In: *Strategy, priorities and achievements in the development of agriculture and breeding of agricultural plants in Belarus: Materials of the International Scientific and Practical Conference dedicated to the 95th anniversary of the Research and Practical Center of National Academy of Sciences of the Republic of Belarus for Arable Farming; 2022 July 7-8; Zhodino, Belarus*. Minsk: Research and Practical Center for Arable Farming; 2022. p.254-256. [in Russian] (Богдан В.З., Богдан Т.М., Литарная М.А., Иванов С.А. Оценка сортов льна-долгунца по параметрам адаптивности в условиях Республики Беларусь. В кн.: *Стратегия, приоритеты и достижения в развитии земледелия и селекции сельскохозяйственных растений в Беларуси: Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 95-летию Научно-практического центра НАН Беларуси по земледелию; 7-8 июля 2022; Жодино, Беларусь*. Минск: РУП «Научно-практический центр по земледелию»; 2022. С.254-256). URL: https://izis.by/wp-content/uploads/IzdSbornik/2022%20Стратегии.pdf [дата обращения 23.04.2023].

Bogdan V.Z., Ivanova E.V., Andronic E.L., Bogdan T.M., Ivashko L.V., Maslinskaya M.E. Methodological guidelines for the study of the collection of flax *(Linum usitatissimum* L.*)* (Metodicheskie ukazaniya po izucheniyu kollektsii lna (*Linum usitatissimum* L.). V. A. Lemesh, P. R. Khomutovsky (eds). Ustie: Flax Institute; 2011. [in Russian] (Богдан В.З., Иванова Е.В., Андроник Е.Л., Богдан Т.М., Ивашко Л.В., Маслинская М.Е. Методические указания по изучению коллекции льна (*Linum usitatissimum* L.) / под ред. Е. А. Лемеш, П. Р. Хомутовский. Устье: Институт льна; 2011).

Dospekhov B.A. Methodology of field trial (Metodika polevogo opyta). Moscow: Agropromizdat; 1985. [in Russian] (Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. Москва: Агропромиздат; 1985).

Goncharenko A.A. On adaptivity and ecological resistance of grain crop varieties. *Vestnik of the Russian Academy of Agricultural Sciences.* 2005;6:49-53. [in Russian] (Гончаренко А.А. Об адаптивности и экологической устойчивости сортов зерновых культур. *Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук*. 2005;6:49-53).

Grib S.I. Strategy priorities and ways of field crop breeding in Belarus. In: *Strategy and priorities for the development of agriculture and field crop breeding in Belarus: Materials of the International Scientific and Practical Conference, dedicated to the 90th anniversary of the foundation of the Research and Practical Center of National Academy of Sciences of the Republic of Belarus for Arable Farming; 2017 July 6-7; Zhodino, Belarus*. Minsk: Research and Practical Center of National Academy of Sciences of the Republic of Belarus for Arable Farming; 2017. p.214-215. [in Russian] (Гриб С.И. Приоритеты стратегии и направления селекции полевых культур в Беларуси. В кн.: *Стратегия и приоритеты развития земледелия и селекции полевых культур в Беларуси: Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию со дня основания РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию»; 5-6 июля 2017;* Жодино, Беларусь. Минск: РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию»; 2017. С.214-215). URL: https://izis.by/wp-content/uploads/Conference/2017/Сборник.pdf [дата обращения 23.04.2023].

Kahiluoto H., Kaseva J., Hakala K., Himanen S.J., Jauhiainen L., Rötter R.P. Salo T., Trinka M. Cultivating resilience by empirically revealing response diversity. *Global Environmental Change*. 2014;25:186-193. DOI: 10.1016/j.gloenvcha.2014.02.002

Kincharov A.I., Demina E.A., Kincharova M.N., Taranova T. Yu., Mullayanova O.S., Chekmasova K.Yu. Methodology for assessing agroecological adaptability of genotypes in conditions of global climate warming. *Proceedings on the Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2022;183(4):39-47. [in Russian] (Кинчаров А.И., Дёмина Е.А., Кинчарова М.Н., Таранова Т.Ю., Муллаянова О.С., Чекмасова К.Ю. Методика оценки агроэкологической адаптированности генотипов в условиях глобального потепления климата. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции.* 2022;183(4):39-47). DOI: 10.30901/2227-8834-2022-4-39-47

Mäkinen H., Kaseva J., Virkajärvi P., Kahiluoto H. Managing resilience of forage crops to climate change through response diversity. *Field Crops Research*. 2015;183:23-30. DOI: 10.1016/j.fcr.2015.07.006

Litarnaya M.A., Bogdan V.Z. Evaluation of adaptability of fibre flax collection samples by “total fibre yield character”. *Agriculture and Breeding in Belarus*. 2022;58:452-457. [in Russian]. (Литарная М.А., Богдан В.З. Оценка адаптивности образцов коллекции льна-долгунца по признаку «урожайность общего волокна». *Земледелие и селекция в Беларуси*. 2022;58:452-457).

Privalov F.I., Grib S.I., Matys S.I. Genetic resources of the national bank of seeds – a basis of crop breeding in Belarus. *Agriculture and breeding in Belarus*. 2020;56:276-283. [in Russian] (Привалов Ф.И., Гриб С.И., Матыс И.С. Генетические ресурсы национального банка семян – основа селекции сельскохозяйственных растений в Беларуси. *Земледелие и селекция в Беларуси*. 2020;56:276-283).

Results of testing varieties of agricultural plants of winter, spring cereals, legumes and groats for economic utility in the Republic of Belarus for 2019-2021 (Rezultaty ispytaniya sortov selskokhozyaistvennykh rasteniy ozimykh, yarovykh

zernovykh, zernobobovykh i krupyanykh na khozyajstvennuyu poleznost v Respublike Belarus' za 2019-2021 gody). Ministry of Agriculture and Food of the Republic of Belarus, State Inspection for Testing and Protection of Plant Varieties. Minsk; 2022. [in Russian] (Результаты испытания сортов сельскохозяйственных растений озимых, яровых зерновых, зернобобовых и крупяных на хозяйственную полезность в Республике Беларусь за 2019-2021 годы / Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, Государственная инспекция по испытанию и охране сортов растений. Минск; 2022).

State Register of Agricultural Plant Varieties (Gosudarstvennyi reestr sortov selskokhozyaistvennykh rastenii). V.A. Beynya (ed.). State Inspection for Testing and Protection of Plant Varieties. Minsk; 2022. [in Russian] (Государственный реестр сортов сельскохозяйственных растений / отв. ред. В. А. Бейня; Государственная инспекция по испытанию и охране сортов растений. Минск; 2022).

Zhuchenko A.A. The role of adaptive farming system in crop production of the XXI century (Rol adaptivnoy sistemy zemledeliya v rastenievodstve XXI veka). In: *Commercial varieties of new crops of the Russian Federation*. Moscow: IKAR; 2003. p.10-15. [in Russian] (Жученко А.А. Роль адаптивной системы земледелия в растениеводстве XXI века. В кн.: *Коммерческие сорта новых культур Российской Федерации*. Москва: ИКАР; 2003. С.10-15).

Zhuchenko A.A. Opportunities for releasing plant cultivars and hybrids taking into account the climate change (Vozmozhnosti sozdaniya sortov i gibridov rasteniy s uchetom izmeneniya klimata). In: *A strategy for Adaptive Breeding of Field Crops in Connection with Global Climate Change* (*Strategiya adaptivnoy selektsii polevykh kultur v svyazi s globalnym izmeneniyem klimata*). Saratov; 2004. p.10-16. [in Russian] (Жученко А.А. Возможности создания сортов и гибридов растений с учетом изменения климата. В кн.: *Стратегия адаптивной селекции полевых культур в связи с глобальным изменением климата*. Саратов; 2004. С.10-16).

Информация об авторах

Виктор Зигмундович Богдан, кандидат сельскохозяйственных наук, заведующий лабораторией селекции льна-долгунца Республиканское унитарное предприятие «Институт льна», 211003 Республика Беларусь, Витебская область, Оршанский район, агрогородок Устье, ул. Центральная, 27, bogdan_v@tut.by, https://orcid.org/0000-0001-9716-1748

Татьяна Михайловна Богдан, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории селекции льна-долгунца Республиканское унитарное предприятие «Институт льна», 211003 Республика Беларусь, Витебская область, Оршанский район, агрогородок Устье, ул. Центральная, 27, tatiana-bogdan2016@yandex.by, https://orcid.org/0009-0001-5439-3706

Марина Александровна Литарная, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник лаборатории селекции льна-долгунца Республиканское унитарное предприятие «Институт льна», 211003 Республика Беларусь, Витебская область, Оршанский район, агрогородок Устье, ул. Центральная, 27, malarittaml@mail.ru, https://orcid.org/0009-0003-3279-9371

Сергей Анатольевич Иванов, научный сотрудник лаборатории селекции льна-долгунца РУП «Институт льна», 211003 Республика Беларусь, Витебская область, Оршанский район, агрогородок Устье, ул. Центральная, 27, ivanoff.ipn007@yandex.ru

Information about the authors

Viktor S. Bogdan, Cand. Sci. (Agriculture), Head, Fiber Flax Breeding Laboratory, Institute of Flax, 27, Tsentralnaya Street, Ustye Agricultural Town, Orsha District, Vitebsk Region, 211003 Republic of Belarus, bogdan_v@tut.by, https://orcid.org/0000-0001-9716-1748

Tatyana M. Bogdan, Cand. Sci. (Agriculture), Leading Researcher, Fiber Flax Breeding Laboratory, Institute of Flax, 27, Tsentralnaya Street, Ustye Agricultural Town, Orsha District, Vitebsk Region, 211003 Republic of Belarus, tatiana-bogdan2016@yandex.by, https://orcid.org/0009-0001-5439-3706

Marina A. Litarnaya, Cand. Sci. (Agriculture), Senior Researcher, Fiber Flax Breeding Laboratory, Institute of Flax, 27, Tsentralnaya Street, Ustye Agricultural Town, Orsha District, Vitebsk Region, 211003 Republic of Belarus, malarittaml@mail.ru, https://orcid.org/0009-0003-3279-9371

Sergey A. Ivanov, Researcher, Fiber Flax Breeding Laboratory, Institute of Flax, 27, Tsentralnaya Street, Ustye Agricultural Town, Orsha District, Vitebsk Region, 211003 Republic of Belarus, ivanoff.ipn007@yandex.ru

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 30.04.2023; одобрена после рецензирования 29.05.2023; принята к публикации 15.09.2023.
The article was submitted on 30.04.2023; approved after reviewing on 29.05.2023; accepted for publication on 15.09.2023.

Обзорная статья
УДК 631.52:631.575:575.22
DOI: 10.30901/2658-6266-2023-3-o1

(cc) BY

Индукция эмбриогенеза в культуре изолированных микроспор *Brassica rapa* L.

А. А. Асланова, А. Б. Курина

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

Автор, ответственный за переписку: Анастасия Андреевна Асланова, a.aslanova@vir.nw.ru

На сегодняшний день создание гибридов F_1, сочетающих в себе высокую продуктивность, ценный биохимический состав и устойчивость к биотическим и абиотическим факторам среды, является актуальным направлением работы с культурами семейства капустные (*Brassicaceae* Burnett).

Для создания однородного, генетически стабильного исходного материала в селекции применяют методы клеточных технологий *in vitro*, которые призваны увеличить выход удвоенных гаплоидов, используемых в качестве исходного материала при создании новых сортов и гибридов.

Brassica rapa L. включает однолетние и двулетние культуры. Методами традиционной селекции *B. rapa* получение селекционно ценных гибридов F_1 возможно не менее, чем за 8-10 лет. При помощи современной технологии производства удвоенных гаплоидов в культуре изолированных микроспор этот процесс можно сократить до 2-3 лет.

B. rapa является одним из наименее пригодных видов для культивирования микроспор *in vitro* в пределах рода *Brassica*, большинство исследуемых образцов являются самонесовместимыми, сохраняют высокую степень гетерозиготности и гетерогенности. На сегодняшний день не существует эффективного протокола, который одинаково подойдет для индукции эмбриогенеза у различных образцов *B. rapa*.

Эмбриогенез в культуре изолированных микроспор рода *Brassica* зависит от стадии развития микроспор, предобработки бутонов, состава питательной среды (макро- и микроэлементы, источники железа, органические добавки, углеводы, регуляторы роста) и условий культивирования. Кроме того, этот процесс сильно зависит от генотипа отдельного растения.

В данном обзоре отражены основные достижения в разработке протоколов получения удвоенных гаплоидов *B. rapa*. Особое внимание уделено факторам, влияющим на эффективность производства гаплоидов в культуре изолированных микроспор.

***Ключевые слова*:** *Brassica rapa*, культура микроспор, индукция эмбриогенеза, питательная среда, удвоенные гаплоиды.

Благодарности: Статья подготовлена в рамках государственного задания ВИР согласно тематическому плану НИР по теме FGEM-2022-0012 «Клеточные технологии для расширения селекционного потенциала культур овощного направления использования».

Для цитирования: Асланова А.А., Курина А.Б. Индукция эмбриогенеза в культуре изолированных микроспор *Brassica rapa* L. *Биотехнология и селекция растений*. 2023;6(3):14-24. DOI: 10.30901/2658-6266-2023-3-o1

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 местам работы.

© Асланова А.А., Курина А.Б., 2023

Review article
DOI: 10.30901/2658-6266-2023-3-o1

Induction of embryogenesis in *Brassica rapa* L. isolated microspore culture

Anastasiya A. Aslanova, Anastasiya B. Kurina

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

Corresponding author: Anastasiya A. Aslanova, a.aslanova@vir.nw.ru

The creation of F_1 hybrids combining high productivity, valuable biochemical composition and resistance to biotic and abiotic environmental factors is an urgent area of work with *Brassicaceae* Burnett.
To create a homogeneous, genetically stable source material in breeding, *in vitro* cell technologies are used to increase the number of doubled haploids used as source material for creating new cultivars and hybrids.
Brassica rapa L. includes annual and biennial crops. Using traditional breeding methods, it takes at least 8-10 years to produce selectively valuable F_1 hybrids of *B. rapa*. With the help of modern technology for producing doubled haploids in the isolated microspore culture, this process can be shortened to 2-3 years.
B. rapa is one of the *Brassica* crops least suitable for microspore *in vitro* cultivation; most of the studied accessions are self-incompatible and retain a high degree of heterozygosity and heterogeneity. To date, there is no effective protocol that is equally suitable for the induction of embryogenesis in different *B. rapa* accessions.
Embryogenesis in an isolated microspore culture of the *Brassica* plants is subject to the timing of microspore development, pre-treatment of buds, composition of the nutrient medium (macro- and microelements, iron sources, organic additives, carbohydrates, growth regulators) and cultivation conditions. In addition, this process strongly depends on the genotype of the individual plant.
This review presents the main achievements in the development of protocols for obtaining doubled haploids of *B. rapa*. Particular attention is paid to the factors influencing the efficiency of haploid production in the isolated microspore culture.

Keywords: *Brassica rapa*, microspore culture, embryogenesis induction, culture medium, doubled haploids.

Acknowledgments: The article was prepared as part of the State Assignment to VIR in accordance with the R&D Thematic Plan, Topic FGEM-2022-0012 “Cell technologies for expanding the breeding potential of vegetable crops”.

For citation: Aslanova A.A., Kurina A.B. Induction of embryogenesis in *Brassica rapa* L. isolated microspore culture. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2023;6(3):14-24. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2023-3-o1

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.

© Aslanova A.A., Kurina A.B., 2023

Введение

Культивируемые виды рода *Brassica* L. составляют разнообразную группу овощных, масличных и кормовых культур (Zhao et al., 2010a).

Род *Brassica* включает шесть видов сельскохозяйственных культур. В ходе геномного анализа в пределах рода было установлено три элементарных диплоидных вида: *B. rapa* L. (геном A, n=10), *B. oleracea* L. (геном C, n=9) и *B. nigra* L. (геном B, n=8), которые дали начало трем амфидиплоидным видам *B. napus* L. (геном AC, n=19), *B. juncea* L. (геном AB, n=18) и *B. carinata* L. (геном BC, n=17) (Nagaharu, 1935; Fadeyeva et al., 1980).

B. rapa (синонимичное название = syn. *Brassica campestris* L. см. URL: https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30076075-2 [дата обращения 28 июля 2023] – один из старейших культивируемых видов семейства *Brassicaceae* (Zhao et al., 2005). Капуста китайская (*B. rapa* L. ssp. *chinensis* (L.) Hanelt) впервые описана в V в. н.э., капуста пекинская (*B. rapa* L. ssp. *pekinensis* (Lour.) Hanelt) – в X в., японская капуста (*B. rapa* L. ssp. *nipposinica* (Bailey) Hanelt) – в XVI в. Капустные культуры *B. rapa* обладают широким внутривидовым разнообразием: капуста пекинская, китайская, розеточная, ноздреватая, пурпурная, японская, брокколетто. К виду *B. rapa* также относят японские листовые репы – комацуна, курона, хирошимана, сирона, мана, являющиеся скороспелыми продуктивными культурами, относительно простыми в выращивании и обладающими ценными биохимическими соединениями. Китайская, японская, пекинская и розеточная капусты содержат большое количество аскорбиновой кислоты, каротина, витамины (B1, B2, PP), фолиевую кислоту, хлорофиллы, значительное количество минеральных элементов – калий, кальций, фосфор, железо (Artemieva, Solovieva, 2018).

В России в промышленных и частных овощеводствах возделывают в основном пекинскую капусту. Изначально местные сорта пекинской капусты выращивали на Дальнем Востоке, на юго-западе Сибири и в Казахстане. Китайская и японская капусты, листовая репа комацуна относятся в России к очень малораспространенным, об остальных культурах практически ничего неизвестно (Artemieva, Solovieva, 2018).

Селекция растений направлена на постоянное увеличение объемов производства сельскохозяйственных культур. Одной из основных задач, стоящих перед селекционерами, является поиск новых признаков, позволяющих повысить урожайность, не снижая качества растения (Germana, 2011).

Технология получения удвоенных гаплоидов является быстрым и эффективным способом ускорения селекционного процесса за счет получения гомозиготных линий. Растение по такой технологии получают из клеток растений на стадии гаметофитов, развивающихся из продуктов мужского мейоза – микроспор – в пыльнике, и женского – мегаспор – в семяпочке. Продукты мейоза, равно как и клетки гаметофита, имеют гаплоидный набор хромосом. Существует два способа получения удвоенных гаплоидов: на основе андрогенеза, в культуре изолированных микроспор пыльника, и гиногенеза, когда в культуре используются неопыленные семяпочки (Kolesnikova et al., 2021).

Культура изолированных микроспор является эффективной технологией получения удвоенных гаплоидов от растений рода *Brassica* (Zhang et al., 2012). Использование удвоенных гаплоидов в селекции сортов *Brassica* изменило время получения инбредных линий для использования в качестве родительских форм с 6+ лет до примерно 2 лет (Dias, 2001).

Успешность *in vitro* культивирования микроспор *B. rapa* является наименьшей среди растений в пределах рода *Brassica*, большинство исследуемых образцов являются самонесовместимыми, сохраняют высокую степень гетерозиготности и гетерогенности (Zhao et al., 2010b).

Эмбриогенез в культуре изолированных микроспор у растений рода *Brassica,* в том числе и у *B. rapa,* зависит от стадии развития микроспор, предобработки бутонов, состава питательной среды (макро- и микроэлементы, источники железа, органические добавки, углеводы, регуляторы роста) и условий культивирования. Кроме того, этот процесс сильно зависит от генотипа отдельного растения (Ferrie et al., 1995; Shumilina et al., 2015; 2020; Domblides et al., 2016, 2018).

Цель данного обзора заключается в обобщении протоколов получения удвоенных гаплоидов *B. rapa* в работах российских и зарубежных исследователей и определении факторов, позволяющих повысить индукцию эмбриогенеза в культуре изолированных микроспор *in vitro*.

Методики производства удвоенных гаплоидов применительно к растениям рода *Brassica*

Производство удвоенных гаплоидов в случае растений рода *Brassica* может быть достигнуто путем гиногенеза или андрогенеза. В первом случае гаплоиды происходят из зародышевого мешка (мегагаметофит), а во втором из микроспор, при этом используют культуру пыльников или изолированных микроспор (Friedt et al., 2005). В последнем случае микроспоры должны находиться на поздней одноядерной стадии развития. Это необходимо для их перехода с гаметофитного на спорофитный путь развития (путь эмбриогенеза) (Touraev et al., 1996; Shmykova et al., 2015).

Из гаплоидных клеток образуется сначала эмбриоид, затем эмбрион, которые имеют половинный (n) набор хромосом. Растение, образовавшееся из гаплоидного эмбриона, является стерильным и не представляет интереса для селекции. Для получения удвоенных гаплоидов на ранних стадиях развития растений проводится процедура, которая приводит к удвоению числа хромосом. Можно применять множество различных методов стрессового воздействия, включая высокие и низкие темпера-

туры, колхицин и углеродное голодание (Shariatpanahi et al., 2006). Обычно, это обработка растений-регенерантов раствором колхицина, после чего растение восстанавливает диплоидный набор хромосом (2n) и вновь становится фертильным, однако такое удвоение может происходить и самопроизвольно (Karpechenko, 1927).

В соответствии с протоколом, разработанным для капустных культур коллективом авторов под руководством E.A Domblides (Domblides et al., 2016), удвоение числа хромосом в эмбриоидах происходит спонтанно и, как следствие, образуются удвоенные гаплоиды. Большинство растений, полученных таким путем, имели диплоидный набор хромосом и не нуждались в этапе обработки колхицином. Растение-регенерант, полученное по данной методике, гомозиготно по аллелям генов, отвечающих за все признаки. Технология получения удвоенных гаплоидов позволяет за 2-3 года получить чистую линию (Shmykova et al., 2015). Выведение чистой линии методами традиционной селекции не позволяет достичь такого результата: можно получить линии – гомозиготы по аллелям генов, отвечающих за признаки, по которым ведётся отбор. Для достижения наибольшей степени гомозиготности может понадобиться не менее 6-12 лет.

Универсального протокола получения удвоенных гаплоидов в культуре изолированных микроспор, подходящего для всех видов *Brassica,* не существует. Это связано с межвидовыми и внутривидовыми различиями по способности к андрогенезу. Стандартный протокол, разработанный для большинства капустных культур, постоянно подвергается оптимизации и включает в себя следующие этапы: выращивание растений-доноров, отбор бутонов, выделение и культивирование пыльников или микроспор, индукцию эмбриогенеза, регенерацию растений, удвоение хромосом (при необходимости). Однако для успешного производства удвоенных гаплоидов необходима разработка индивидуального протокола для каждого вида растений и, в частности, для каждого отдельного образца (Shmykova et al., 2015).

Факторы, влияющие на эффективность производства гаплоидов в культуре изолированных микроспор *B. rapa*

Подготовка донорных растений. Донорные растения выращивают в климатической камере при температуре 21°C, фотопериоде 16 часов – день/ 8 часов – ночь и освещенности 9000 люкс (Domblides et al., 2016). В других исследованиях авторы предлагают выращивать растения-доноры при том же световом режиме, но при более низких температурах, а именно при 15 и 19°C (Shumilina et al., 2015; 2020; 2021; Domblides et al., 2018).

Определение стадии развития мужского гаметофита донорного растения необходимо для успешной индукции эмбриогенеза в культуре микроспор (Touraev et al., 1997). У растений рода *Brassica* к эмбриогенезу способны микроспоры на поздней стадии развития и ранние двуклеточные пыльцевые зерна. Характерным признаком перехода микроспор с гаметофитного пути развития на спорофитный является первое митотическое деление ядра с симметричным цитокинезом взамен асимметричному (Shmykova et al., 2015). Важно отметить, что одноядерная стадия развития мужского гаметофита у *B. rapa* должна составлять не менее 80% в бутоне (Keller, 1975; Custers et al., 1994; Babbar et al., 2004; Shariatpanahi et al., 2006). Выбор бутона с более чем 20% двуядерных ранних пыльцевых зёрен приведет к ингибированию непрерывного роста эмбрионов (Kott et al., 1988; Custers, 2003).

В своём исследовании J.B.M. Custers с соавторами (Custers et al., 1994) разделили ранние пыльцевые зёрна, находящиеся на двуядерной стадии развития, на три класса: ранние, средние и поздние. При культивировании пыльцевых зёрен первого класса ещё возможно получить эмбриоиды. Однако, группа исследователей под руководством P. Binarova (Binarova et al., 1997) отметила, что даже в случае двуядерных пыльцевых зёрен, находящихся на более поздней стадии развития, ещё может произойти переключение с гаметофитного на спорофитный путь развития (см. также Shmykova et al., 2015). Культуру клеток, осуществивших такой переход, называют культурой микроспор (Custers et al., 1994; Babbar et al., 2004; Shariatpanahi et al., 2006).

Критическим фактором для эффективности эмбриогенеза в культуре микроспор является жизнеспособность микроспор. Мертвые клетки будут производить дополнительные токсичные соединения в культуре микроспор (Custers et al., 1994). Условия выращивания растения донора оказывают влияние на жизнеспособность микроспор. Например, опрыскивание растений против тли в климатической камере влияет на качество и количество жизнеспособных микроспор (Minkhorst, 2012).

В методике, разработанной коллективом авторов под руководством E.A. Domblides (Domblides et al., 2016) стадия развития микроспор коррелировала с размером бутонов. Такая корреляция была установлена разными исследователями, особенно изучающими мейоз у растений. Однако отбор бутонов по размеру является косвенным, поскольку фактическая стадия развития микроспор определяется только после их выделения из пыльников. Стадию развития микроспор определяют при изучении их под микроскопом на цитологических препаратах, окрашенных DAPI (4,6-диамидино-2-фенилиндол дигидрохлорид). Для этого бутоны определенного размера собирают с каждого растения случайным образом.

Холодовая предобработка бутонов синхронизирует деления ядер гаплоидных микроспор и повышает их жизнеспособность. Микроспоры, выделенные из бутонов, предварительно прошедших холодовую предобработку, переходят с гаметофитного пути развития на спорофитный, что приводит к формированию многоклеточных

гаплоидных эмбриоидов (Koshkin, 2010).

Группа исследователей под руководством E.A. Domblides (Domblides et al., 2016) в своей методике рекомендуют отобрать бутоны оптимального размера и поместить их на предобработку на 1-3 суток в холодильник при температуре 4-10°C. Однако, в литературе встречаются данные об отрицательных эффектах низкотемпературных обработок у *B. rapa* (Sopory, Munshi, 1996).

Исходя из изученной литературы, можно сделать вывод, что каждый исследуемый генотип требует индивидуального подхода при подборе индуцирующего фактора, которым, в частности, может быть повышенная температура культивирования микроспор (Shmykova et al., 2015).

Состав питательной среды для индукции эмбриогенеза у образцов *B. rapa.* Для таблицы «Протоколы получения удвоенных гаплоидов *B. rapa* в культуре изолированных микроспор» были выбраны публикации российских и зарубежных исследователей, в которых сообщалось об успешной индукции эмбриогенеза в культуре изолированных микроспор *B. rapa*. Если в протоколах, разработанных для других видов *Brassica, B. rapa* оказывалась отзывчивой на условия культивирования *in vitro*, то результаты таких исследований также были включены в таблицу. Как видно из таблицы, исследователи используют разные способы определения эффективности эмбриогенеза в культуре микроспор и выхода эмбриоидов. Это может быть количество эмбриоидов, рассчитанное с учетом количества пыльников, использованных для приготовления суспензии микроспор, либо отнесенное к количеству чашек Петри с учетом содержания микроспор в миллилитре среды, определяемое с помощью камеры Горяева, и объёма суспензии микроспор, наносимого на чашку. В первом случае выход эмбриоидов выражают в количестве на бутон или на 100 бутонов, во втором – в количестве на чашку. Третий вариант представления эффективности эмбриогенеза – это выход эмбриоидов, выраженный в процентах от общего числа микроспор, введенных в культуру.

В большинстве протоколов в качестве среды для промывки микроспор было предложено использовать среду B5 с 13% сахарозой (B5-13) (Gamborg, Eveleigh, 1968). Промывочная среда необходима на этапе центрифугирования изолированных микроспор. В протоколе, разработанном командой исследователей под руководством Domblides (Domblides et al., 2016), содержится рекомендация использовать среду B5 в качестве промывочной. Группы исследователей под руководством A.M.R. Baillie (Baillie et al., 1992) и A.M.R. Ferrie (Ferrie et al., 1995) применяли ½B5-13 в качестве промывочной среды, однако нет доказательств того, что снижение концентрации солей является ключевым фактором повышения выхода эмбриоидов. В протоколах, описанных группами ученых под руководством A.L. Burnett (Burnett et al., 1992) и Y-D. Guo , S. Pulli (Guo Y-D., Pulli S., 1996), использовали промывочную среду B5 без добавления железа.

В отличие от единства мнения исследователей в отношении промывочной среды, в различных публикациях можно увидеть множество вариаций среды для индукции, дополненных ещё и культивированием микроспор в условиях повышенной температуры сразу после их выделения из пыльников. Индукционная среда необходима для культивирования изолированных микроспор до появления эмбриоидов. Базовой питательной средой для культивирования микроспор капустных культур является жидкая среда NLN (Lichter, 1982) с 13% сахарозой (NLN-13). Группы исследователей под руководством S. Sato (Sato et al., 1989), F.L. Zhang (Zhang, Takahata, 2001) и T. Wang (Wang et al., 2009) использовали среду ½NLN-13 в качестве индукционной. Половинная концентрация компонентов среды увеличила образование зародышей (Sato et al., 1989). При использовании ½NLN-13 некоторые невосприимчивые образцы также продуцировали зародыши, чего не происходило при культивировании на среде NLN-13 (Wang et al., 2009). В своем исследовании A.M.R. Ferrie (Ferrie et al., 2005) с соавторами предложили использовать NLN с 17% сахарозой (NLN-17) в качестве индукционной среды.

Использование среды NLN-17 с последующей заменой на среду NLN с 10% раствором сахарозы (NLN-10) через 48 часов приводит к увеличению количества образующихся эмбриоидов и сокращает время, необходимое для появления зародышей в культуре микроспор у образцов *B. rapa* (Baillie et al., 1992; Ferrie et al., 1995; Gu et al., 2003). Замена питательной среды NLN-17 на NLN-10 имеет два преимущества. Во-первых, на разных стадиях развития микроспор требуются разные концентрации сахарозы. Высокий уровень сахарозы благотворно влияет на жизнеспособность и развитие микроспор, создает необходимый для начального развития микроспор осмотический потенциал, однако для продолжения развития требуется более низкая концентрация сахарозы (Dunwell, Thurling, 1985; Baillie et al., 1992; Lionneton, 2001). Во-вторых, смена индукционной среды через 48 часов на начальном этапе культивирования микроспор необходима для избавления от токсичных элементов, высвобождаемых из более старых двуядерных ранних пыльцевых зёрен, что приводит к нормальному зарождению и развитию эмбриона (Kott et al., 1988).

Уменьшение содержания железа в среде NLN в два раза приводило к увеличению выхода эмбриоидов, а также влияло на цвет микроспор, они становились жёлтыми. Последнее можно было использовать в качестве фенотипического критерия эффективности эмбриогенеза. Микроспоры желтого цвета указывали на хороший эмбриогенез, в то время как микроспоры зеленого цвета не давали зародышей (Burnett et al., 1992). R.S. Wong (Wong et al., 1996) с соавторами применяли среду NLN с 13% содержанием в ней сахарозы (NLN-13) как в качестве промывочной среды, так и в качестве культуральной. В качестве промывочной среды также может быть использована среда ½NLN-13 (Domblides et al., 2016; Shumilina et al., 2020).

Таблица. Протоколы получения удвоенных гаплоидов *B. rapa* в культуре изолированных микроспор

Table. Protocols for producing doubled haploids in *B. rapa* isolated microspore culture

Вид/ Species	Холодовая предобработка бутонов (°C), часы/ Bud cold pretreatment (°C), hrs	Промывочная среда для культуры микроспор/ Microspore culture rinsing medium	Индукционная среда для культуры микроспор/ Microspore culture induction medium	Тепловой шок микроспор °C (часы)/ Heat shock °C (hrs)	Микроспор/ мл Microspores/ ml	Выход эмбриоидов/ Embryoid yield	Публикация/ Literature source
B. campestris ssp. *pekinesis*	-	B5-13	1/2 макро + витамины NN микро MS-10	33°C (24)	200000	0,1-0,25%	Sato et al., 1989
B. rapa ssp. *oleifera*	-	B5 без Fe	NLN 0,5 Fe с заменой на NLN-13	33°C (8-12)	25000-100000		Burnett et al., 1992
B. campestris ssp. *oleifera*	-	1/2B5-13	NLN-17 + 0,83 мг/л KI с заменой через 48 ч на NLN-10	32°C (48)	100000	46,3/100 бутонов	Baillie et al., 1992
B. ssp. *chinensis*	-	-	NLN-10 с 0,5 мг/л NAA и 0,05 мг/л BA	33°C (24)	100000-200000	57/бутон	Cao et al., 1994
B. rapa ssp. *oleifera*	-	1/2B5-13	NLN-17 + 0,83 мг/л KI с заменой через 48 ч на NLN-10	32°C (48)	100000	До 0,7/бутон	Ferrie et al., 1995
B. campestris ssp. *oleifera*	-	B5 без Fe	NLN-13 + 0,83 мг/л KI	32°C (72)	50000	До 59,3/бутон	Guo, Pulli, 1996
B. campestris ssp. *parachinensis*	-	NLN-13	NLN-13 + 0.05мг/л BAP	32°C (48)	100000	0,2–15/бутон	Wong et al., 1996
B. rapa	-	B5-13	NLN-13	25°C (10-12×24)	20000	До 0,12%	Parihar et al., 1999
B. campestris ssp. *pekinesis*	-	B5-13	1/2NLN-10	32,5°C (24)	100000	до 800	Zhang, Takahata, 2001
B. campestris ssp. *Pekinesis*	7-20×24*****	mB5-13	NLN-13 + 0.3 мг/л BAP	33°C (24)	50000	-	Sato et al., 2002
B. rapa ssp. *chinensis*	-	B5-13	NLN-17:NLN-10 + 0,83 мг/л KI	32°C (48)	20000	3,8-42,2/бутон	Gu et al., 2003
B. rapa	-	-	NLN-17 + 0,44 мкл BAP	32°C (48)	-	-	Ferrie et al., 2005
B. rapa	-	NLN-13	NLN-13	31°C (72)	40000	-	Lou et al. 2008
B. campestris ssp. *chinensis*	-	B5-13	1/2NLN-13 макро	32°C (18)	50000	до 70/чашка	Wang et al., 2009
B. campestris ssp. *Pekinesis* x *chinensis*	5×24	B5-13	NLN-13 + PCIB	35°C (24)	50000	8,27-19,20/ бутон	Zhang et al., 2011
B. campestris	-	B5-13	NLN-13	33°C (24; 48)	50000	-	Zhang et al., 2012
Brassicaceae	7-10/ 1-3×24	B-5/NLN-13	NLN-13	32°C (1-3×24)*	-	до 800/ ***	Domblides et al., 2016

Вид/ Species	Холодовая предобработка бутонов (°C), часы/ Bud cold pretreatment (°C), hrs	Промывочная среда для культуры микроспор/ Microspore culture rinsing medium	Индукционная среда для культуры микроспор/ Microspore culture induction medium	Тепловой шок микроспор °C (часы)/ Heat shock °C (hrs)	Микроспор/ мл Microspores/ ml	Выход эмбриоидов/ Embryoid yield	Публикация/ Literature source
B. rapa L. ssp. *chinensis* (L.) Hanelt var. *purpuraria* (L.H. Bailey) Hanelt	-	-	NLN-13 + $AgNO_3$	32°C	-	до 40/ чашка	Kozar et al., 2019
B. rapa L. ssp. *chinensis*	4-10/ 1-3×24	NLN-13****	NLN-13****	32°C (3×24)**	40000-50000	-	Shumilina et al., 2021
B. rapa L. ssp. *pekinensis*	-	B5-13	NNS-10	34°C (24)*	40000	-	Adamus et al., 2021

Примечания:* – стрессовое воздействие в темноте; ** – 50 оборотов/мин в инкубаторе-шейкере в темноте; *** – всего в эксперименте. Микроспоры, выделенные из 4-5 бутонов, помещали на чашку Петри d=60 мм; **** – с модификациями; ***** – в среде mB5-13; 1/2NLN-13 макро – среда NLN-13 с половинной концентрацией макроэлементов; микро – содержание в среде микроэлементов; BAP – 6-бензиламинопурин; NAA – нафтилуксусная кислота (НУК); KI – йодид калия

Добавление активированного угля. В нескольких публикациях H.H Gu (Gu et al., 2003), H.Y. Na (Na et al., 2009) и Y. Zhang (Zhang et al., 2012) с соавторами было сообщено об улучшении образования эмбрионов при добавлении активированного угля вместе с агарозой. Использование активированного угля приводит к повышению эффективности эмбриогенеза, формированию, росту и развитию эмбрионов за счет нейтрализации токсичных соединений, продуцируемых старыми и нежизнеспособными микроспорами (Kott et al., 1988; Dias, 2001).

Использование регуляторов роста. Выделение этилена при культивировании микроспор оказывает токсическое действие и препятствует нормальному развитию эмбриоидов. Ингибиторы синтеза этилена (нитрат серебра, тиосульфат серебра, хлорид кобальта, аминоэтоксивинилглицин) способствуют повышению эффективности эмбриогенеза (Prem et al., 2005; 2008; Na et al., 2011). K.M.R. Kabir (Kabir et al., 2013) с соавторами пишут о положительном действии нитрата серебра на выход эмбриоидов в культуре микроспор разных подвидов *B. rapa* – концентрация 0,1 мг/л повышала выход эмбриоидов на 27-36% в зависимости от генотипа растения-донора.

В исследовании Y. Zhang с соавторами (Zhang et al., 2011) сообщалось, что добавление 40 мкмолей ингибитора ауксина п-хлорфеноксиизомасляной кислоты (PCIB) увеличивало интенсивность эмбриогенеза до шести раз. Эти наблюдения были аналогичны наблюдениям P.K. Agarwal с соавторами (Agarwal et al., 2006), согласно которым PCIB, вероятно, участвует в стимулировании развития эмбрионов благодаря подавлению ингибирующего эффекта высокой концентрации ауксина.

S.S Lee., A.J. Kim (Lee, Kim, 2000) и Y. Takahashi с соавторами (Takahashi et al., 2012) показали, что добавление БАП (6-Бензиламинопурин) способствовало развитию нормальных эмбриоидов у *B. rapa*.

Брассиностероиды также могут оказывать положительное влияние на образование и развитие эмбриоидов в культуре микроспор растений рода *Brassica* (Ferrie et al., 2005; Belmonte et al., 2010).

Заключение

Таким образом, из данных литературы следует, что индукция эмбриогенеза в культуре изолированных микроспор *in vitro* у *B. rapa* возможна при выполнении следующих условий: выборе подходящих растений-доноров, выращивании при соблюдении температурных и световых режимов, определении оптимальной стадии развития микроспор, отборе бутонов подходящего размера в зависимости от стадии развития микроспор, предобработке бутонов холодом, подборе промывочной среды и среды для культивирования, добавлении активированного угля и регуляторов роста. Способность к эмбриогенезу в культуре изолированных микроспор *in vitro* у образцов *B. rapa* может варьировать не только у растений в пределах вида, но и у каждого индивидуального растения.

На сегодняшний день в мире достигнуты большие успехи в получении удвоенных гаплоидов рода *Brassica*. Однако, культуры клеток, выращенных из микроспор, далеко не у всех растений демонстрируют способность к эмбриогенезу. Для масштабного внедрения удвоенных гаплоидов в практику создания исходного селекционного материала нужно разработать универсальный протокол, позволяющий индуцировать эмбриогенез в культуре изолированных микроспор *in vitro* с использованием образцов различных сельскохозяйственных культур.

В перспективе эта технология позволит в кратчайшие сроки предоставить высокопродуктивный селекционный материал для создания отечественных сортов репы, пекинской и китайской капусты, обладающих ценным биохимическим составом и устойчивостью к биотическим и абиотическим стрессам.

References/Литература

Adamus A., Szklarczyk M., Kiełkowska A. Haploid and doubled haploid plant production in *Brassica rapa* L. subsp. *pekinensis* via microspore culture. In: J.M. Segui-Simarro (ed.). Doubled Haploid Technology. *Methods in Molecular Biology*. New York: Humana; 2021. Vol. 2288. p.181-199. DOI: 10.1007/978-1-0716-1335-1_11

Agarwal P.K., Agarwal P., Custers J.B.M., Chun-ming L., Bhojwani S.S. PCIB an antiauxin enhances microspore embryogenesis in microspore culture of *Brassica juncea*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 2006;86:201-210. DOI: 10.1007/s11240-006-9108-0

Artemieva A.M., Solovieva A.E. Genetic diversity and biochemical value of *Brassica* L. cabbage plants. *Bulletin of NSAU (Novosibirsk State Agrarian University)*. 2018;(4):50-61. [in Russian] (Артемьева А.М., Соловьева А.Е. Генетическое разнообразие и биохимическая ценность капустных овощных растений рода *Brassica* L. *Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет)*. 2018;(4):50-61. DOI: 10.31677/2072-6724-2018-49-4-50-61

Babbar S.B., Agarwal P.K., Sahay S., Bhojwani S.S. Isolated microspore culture of Brassica: An experimental tool for developmental studies and crop improvement. *Indian Journal of Biotechnology*. 2004;3:185-202.

Baillie A.M.R., Epp D.J., Hutcheson D., Keller W.A. In vitro culture of isolated microspores and regeneration of plants in *Brassica campestris*. *Plant Cell Reports*. 1992;11:234-237. DOI: 10.1007/BF00235072

Belmonte M, Elhiti M, Waldner B, Stasolla C. Depletion of cellular brassinolide decreases embryo production and disrupts the architecture of the apical meristems in *Brassica napus* microspore-derived embryos. *Journal of Experimental Botany*. 2010;61(10):2779-94. DOI: 10.1093/jxb/erq110

Binarova P., Hause G., Cenklová V., Cordewener J.H.G., Lookeren Campagne M.M. A short severe heat shock is required to induce embryogenesis in late bicellular pollen of *Brassica napus* L. *Sexual Plant Reproduction* 1997;10:200-208. DOI: 10.1007/s004970050088

Burnett L., Yarrow S., Huang B. Embryogenesis and plant regeneration from isolated microspores of *Brassica rapa* L. *ssp. oleifera*. *Plant Cell Reports* 1992;11:215-218. DOI: 10.1007/BF00232537

Cao M.Q., Li Y., Liu F., Doré C. Embryogenesis and plant regeneration of pakchoi (*Brassica rapa* L. *ssp. chinensis*) via *in vitro* isolated microspore culture. *Plant Cell Reports*. 1994;13:447-450. DOI: 10.1007/BF00231964

Custers J.B.M., Cordewener J.H., Nöllen Y., Dons H.J., Lockeren

Campagne M.M. Temperature controls both gametophytic and sporophytic development in microspore cultures of *Brassica napus*. *Plant Cell Reports*. 1994;13(5):267-271. DOI: 10.1007/BF00233317

Custers J.B.M. Microspore culture in rapeseed (*Brassica napus* L.). In: M. Maluszynski , K.J. Kasha, B.P. Forster, I. Szarejko (eds). *Doubled Haploid Production in Crop Plants*. Springer, Dordrecht; 2003. p.185-193. DOI: 10.1007/978-94-017-1293-4_29

Dias J.S. Effect of incubation temperature regimes and culture medium on broccoli microspore culture embryogenesis. *Euphytica*. 2001;109:389-394. DOI: 10.1023/A:1017563915319

Domblides E.A., Kozar E.V., Shumilina D.V., Zayachkovskaya T.V., Akhramenko V.A., Soldatenko A.V. Embryogenesis in culture of isolated microspore of broccoli. *Vegetable crops of Russia*. 2018;(1):3-7. [In Russian] (Домблидес Е.А., Козарь Е.В., Шумилина Д.В., Заячковская Т.В., Ахраменко В.А., Солдатенко А.В. Эмбриогенез в культуре микроспор брокколи. *Овощи России*. 2018;(1):3-7). DOI: 10.18619/2072-9146-2018-1-3-7

Domblides E.A., Shmykova N.A., Shumilina D.V., Zayachkovskaya T.V., Mineikina A.I., Kozar E.V., Akhramenko V.A., Shevchenko L.L., Kan L.Yu., Bondareva L.L., Domblides A.S.. Technology for obtaining doubled haploids in the culture of microspores of the cabbage family: (methodical recommendations) (Texnologiya polucheniya udvoenny`x gaploidov v kul`ture mikrospor semejstva kapustny`e: (metodicheskie rekomendacii)). Moscow: VNIISSOK; 2016. [in Russian] (Домблидес Е.А. , Шмыкова Н.А., Шумилина Д.В., Заячковская Т.В., Минейкина А.И. , Козарь Е.В., Ахраменко В.А., Шевченко Л.Л., Кан Л.Ю., Бондарева Л.Л., Домблидес А.С. Технология получения удвоенных гаплоидов в культуре микроспор семейства капустные: (методические рекомендации). Москва: ВНИИССОК; 2016).

Dunwell J.M., Thurling N. Role of sucrose in microspore embryo production in *Brassica napus* ssp. *oleifera*. *Journal of Experimental Botany*. 1985;36(9):1478-1491. DOI: 10.1093/jxb/36.9.1478

Fadeyeva T.S., Sosnikhina S.P., Irkayeva N.M. Comparative genetics of plants. Tutorial (Sravnitelnaya genetika rastenii. Uchebnoe posobie). Leningrad: Leningrad University Publishing House; 1980. p.98-101. [in Russian] (Фадеева Т.С., Соснихина С.П., Иркаева Н.М. Сравнительная генетика растений. Учебное пособие. Ленинград: Издательство Ленинградского университета; 1980. С.98-101).

Ferrie A.M.R., Dirpaul J., Krishna P., Krochko J., Keller W.A. Effects of brassinosteroids on microspore embryogenesis in *Brassica* species. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*. 2005;41(6):742-745. DOI: 10.1079/IVP2005690

Ferrie A.M.R., Epp D.J., Keller W.A. Evaluation of *Brassica rapa* L. genotypes for microspore culture response and identification of a highly embryogenic line. *Plant Cell Reports.* 1995;14:580-584. DOI: 10.1007/BF00231942

Friedt W., Zarhloul M.K. Haploids in the improvement of crucifers. In: C. Don Palmer, W.A. Keller, K.J. Kasha (eds). *Haploids in Crop Improvement II. Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Springer: Berlin, Heidelberg; 2005. Vol. 56. p.191-213. DOI: 10.1007/3-540-26889-8_10

Gamborg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and detection of glucanases in suspension cultures of wheat and barley. *Canadian Journal of Biochemistry*. 1968;46(5):417-421. DOI: 10.1139/o68-063

Germana M.A. Anther culture for haploid and doubled haploid production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 2011;104(3):283-300. DOI: 10.1007/s11240-010-9852-z

Gu H.H., Zhou W.J., Hagberg P. High frequency spontaneous production of doubled haploid plants in microspore cultures of *Brassica rapa* ssp. *chinensis*. *Euphytica.* 2003;134:239-245.

Guo Y-D., Pulli S. High-frequency embryogenesis in *Brassica campestris* microspore culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 1996;46:219-225. DOI :10.1007/BF02307098

Kabir K.M.R., Kwon S.-W., Park Y.-J. Application of cobalt chloride and silver nitrate for efficient microspore culture of *Brassica rapa* ssp. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*. 2013;23(1):1-10. DOI: 10.3329/ptcb.v23i1.15554

Karpechenko G.D. Polyploid hybrids of *Raphanus sativus* L. × *Brassica oleracea* L. (On the problem of experimental species formation) (Poliploidnye gibridy *Raphanus sativus* L. × *Brassica oleracea* L. (K probleme eksperimentalnogo vidoobrazovaniia)). *Bulletin of Applied Botany, of Genetics and Plant Breeding*. 1927;17(3):305-410. [in Russian] (Карпеченко Г.Д. Полиплоидные гибриды *Raphanus sativus* L. × *Brassica oleracea* L. (К проблеме экспериментального видообразования). *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 1927;17(3):305-410).

Keller W.A., Rajhathy T., Lacapra J. *In vitro* production of plants from pollen in *Brassica campestris*. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*. 1975;17(4):655-666. DOI: 10.1139/g75-081

Kolesnikova E.O., Donskikh E.I., Berdnikov R.V. Haploid biotechnology as a tool for creating a selection material for sugar beets. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2021;25(8):812-821. [in Russian] (Колесникова Е.О., Донских Е.И., Бердников Р.В. Биотехнологии гаплоидов как инструмент создания селекционного материала сахарной свеклы. *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2021;25(8):812-821). DOI: 10.18699/VJ21.094

Koshkin E.I. Physiology of sustainability of agricultural crops: textbook (Fiziologiya ustoychivosti selskokhozyaystvennykh kultur: uchebnik). Moscow: Drofa; 2010. [in Russian] (Кошкин Е.И. Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур: учебник. Москва: Дрофа; 2010).

Kott L.S., Polsoni L., Ellis B., Beversdorf W.D. Autotoxicity in isolated microspore cultures of *Brassica napus*. *Canadian Journal of Botany*. 1988;66(8):1665-1670. DOI: 10.1139/b88-227

Kozar E.V., Korottseva K.S., Romanova O.V., Chichvarina O.A., Kan L.Yu., Ahramenko V.A., Domblides E.A. Production of doubled haploids in *Brassica purpuraria*. *Vegetable crops of Russia*. 2019;(6):10-18. [In Russian] (Козарь Е.В., Коротцева К.С., Романова О.В., Чичварина О.А., Кан Л.Ю., Ахраменко В.А., Домблидес Е.А. Получение удвоенных гаплоидов *Brassica purpuraria*. *Овощи России*. 2019;(6):10-18). DOI: 10.18619/2072-9146-2019-6-10-18

Lee S.S., Kim A.J. Effect of cultural vessel, plant growth regulator, illuminating and shaking on embryo induction and growth in microspore culture of heading *Chinese cabbage*. *Korean journal of horticultural science and technology*. 2000;41:16-20.

Lichter R. Induction of haploid plants from isolated pollen of *Brassica napus*. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*. 1982;105:427-434. DOI: 10.1016/S0044-328X(82)80040-8

Lionneton E., Beuret W., Delaitre C., Ochatt S., Rancillac M. Improved microspore culture and doubled-haploid plant regeneration in the brown condiment mustard (*Brassica juncea*). *Plant Cell Reports.* 2001;20:126-130. DOI: 10.1007/s002990000292

Lou P., Zhao J., He H., Hanhart C., Carpio D.P.D., Verkerk R., Custers J., Koornneef M., Bonnema G. Quantitative trait loci for glucosinolate accumulation in *Brassica rapa* leaves. *The New Phytologist*. 2008;179(4):1017-1032. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2008.02530.x

Minkhorst T. Optimization of doubled haploid protocol for *Brassica rapa* ssp.: the effect of sucrose reduction in the culture medium on embryo formation [dissertation]. Wageningen University; 2012.

Na H., Kwak J.H., Chun C. The effect of plant growth regulators activated charcoal and $AgNO_3$ on microspore derived embryo formation in broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*). *Horticulture, Environment, and Biotechnology*. 2011;52(5):524-529. DOI: 10.1007/s13580- 011-0034-7

Na H.Y., Park S.H., Hwanh G.Y., Yoon M.K., Chun C.H. Medium, $AgNO_3$, activated charcoal and NAA effects on microspore culture in *Brassica rapa*. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology*. 2009;27(4):657-661.

Nagaharu U. Genome analysis in *Brassica* with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization. *Japanese Journal of Botany*. 1935;7:389-452.

Parihar D.S., Aradhye S. Microspore culture for induction of doubled haploidy in *B. juncea* and *B. rapa*. In: *Proceedings 10th International Rapeseed Congress, 1999 Sept. 26-29; Canberra, Australia*. Australia: the regional institute online publishing. Available from: URL: http://www.regional.org.au/au/gcirc/4/246.

htm [дата обращения: 28.07.2023].
Prem D., Gupta K., Agnihotri A. Effect of various exogenous and endogenous factors on microspore embryogenesis in Indian mustard (*Brassica juncea* (L.) Czern & Coss). *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*. 2005;41:266-273. DOI: 10.1079/IVP2005636
Prem D., Gupta K., Sarkar G., Agnihotri A. Activated charcoal induced high frequency microspore embryogenesis and efficient doubled haploid production in *Brassica juncea*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2008;93:269-282. DOI: 10.1007/s11240-008-9373-1
Sato S., Kato N., Iwai S., Hagimori M. Effect of low temperature pretreatment of buds or inflorescence on isolated microspore culture in *Brassica rapa* (syn. *B. campestris*). *Breeding Science*. 2002;52:23-26. DOI: 10.1270/jsbbs.52.23
Sato T., Nishio T., Hirai M. Plant regeneration from isolated microspore cultures of Chinese cabbage (*Brassica campestris* spp. *pekinensis*). *Plant Cell Reports.* 1989;8:486-488. DOI: 10.1007/BF00269055
Shariatpanahi M.E., Bala U., Heberle-Bors E., Touraev A. Stresses applied for the re-programming of plant microspores towards *in vitro* embryogenesis. *Physiologia Plantarum*. 2006;127:519-534.
Shmykova N.A., Shumilina D.V., Suprunova T.P. Doubled haploid production in *Brassica* L. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2015;19(1):111-120. [in Russian] (Шмыкова Н.А., Шумилина Д.В., Супрунова Т.П. Получение удвоенных гаплоидов у видов рода *Brassica* L. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2015;19(1):111-120). DOI: 10.18699/VJ15.014
Shumilina D., Kornyukhin D., Domblides E., Soldatenko A., Artemyeva A. Effects of genotype and culture conditions on microspore embryogenesis and plant regeneration in *Brassica Rapa* ssp. *rapa* L. *Plants*. 2020;9(2):278. DOI: 10.3390/plants9020278
Shumilina D., Kozar E., Chichvarina O., Korottseva K., Domblides E. *Brassica rapa* L. ssp. *chinensis* isolated microspore culture protocol. In: J.M. Segui-Simarro (ed.). Doubled Haploid Technology: *Methods in Molecular Biology*. New York: Humana; 2021. Vol. 2288. p.145-162. DOI: 10.1007/978-1-0716-1335-1_9
Shumilina D.V., Shmykova N.A., Bondareva L.L., Suprunova T.P. The effect of genotype and environmental components on embryogenesis in the culture of microspores of Chinese cabbage *Brassica rapa* ssp. *chinensis* variety Lastochka (Vliyanie genotipa i komponentov sredy na embriogenez v kulture mikrospor kapusty kitayskoy *Brassica rapa* ssp. *chinensis* sorta Lastochka). *Biology Bulletin*. 2015;4:368-375. [in Russian] (Шумилина Д.В., Шмыкова Н.А., Бондарева Л.Л., Супрунова Т.П. Влияние генотипа и компонентов среды на эмбриогенез в культуре микроспор капусты китайской *Brassica rapa ssp. chinensis* сорта Ласточка. *Известия Российской академии наук. Серия: Биологическая*. 2015;4:368-375).
Takahashi Y., Yokoi S., Takahata Y. Improvement of microspore culture method for multiple samples in *Brassica*. *Breeding Science*. 2012;61:96-98. DOI: 10.1270/jsbbs.61.96
Touraev A., Indrianto A., Wratschko I., Vicente O., Heberle-Bors E. Efficient microspore embryogenesis in wheat (*Triticum aestivum* L.) induced by starvation at high temperature. *Sexual Plant Reproduction.* 1996;9:209-215. DOI: 10.1007/BF02173100
Touraev A., Vicente O., Heberle-Bors E.F. Initiation of microspore embryogenesis by stress. *Trends in plant science*. 1997;2(8):297-302.
Wang T., Li H., Zhang J., Ouyang B., Lu Y., Ye Z. Initiation and development of microspore embryogenesis in recalcitrant purple flowering stalk (*Brassica campestris* ssp. *chinensis* var. *purpurea* Hort.) genotypes. *Scientia Horticulturae.* 2009;121:419-424. DOI: 10.1016/J.SCIENTA.2009.03.012
Wong R.S.C., Zee S.Y., Swanson E.B. Isolated microspore culture of Chinese flowering cabbage (*Brassica campestris* ssp. *parachinensis*). *Plant Cell Reports.* 1996;15:396-400. DOI: 10.1007/BF00232062
Zhang F., Takahata Y. Inheritance of microspore embryogenic ability in *Brassica* crops. *Theoretical and Applied Genetics.* 2001;103:254-258. DOI: 10.1007/s001220100602
Zhang Y., Wang A., Liu Y., Wang Y., Feng H. Effects of the antiauxin PCIB on microspore embryogenesis and plant regeneration in *Brassica rapa*. *Scientia Horticulturae*. 2011;130:32-37.
Zhang Y., Wang A., Liu Y., Wang Y., Feng H. Improved production of doubled haploids in *Brassica rapa* through microspore culture. *Plant Breeding* 2012;131:164-169. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2011.01927.x
Zhao J., Artemyeva A.M., Del Carpio D.P., Basnet R.K., Zhang N., Gao J., Li F., Bucher J., Wang X., Visser R.G., Bonnema G. Design of a *Brassica rapa* core collection for association mapping studies. *Genome*. 2010a;53(11):884-98. DOI: 10.1139/G10-082
Zhao J., Kulkarni V., Liu N., Del Carpio D.P., Bucher J., Bonnema G. *BrFLC2* (*FLOWERING LOCUS C*) as a candidate gene for a vernalization response QTL in *Brassica rapa*. *Journal of Experimental Botany*. 2010b;61(6):1817-1825. DOI: 10.1093/jxb/erq048
Zhao J., Wang X., Deng B., Lou P., Wu J., Sun R., Xu Z., Vromans J., Koornneef M., Bonnema G. Genetic relationships within *Brassica rapa* as inferred from AFLP fingerprints. *Theoretical and Applied Genetics.* 2005;110(7):1301-1314. DOI: 10.1007/s00122-005-1967-y

Информация об авторах

Анастасия Андреевна Асланова, младший научный сотрудник, лаборатория селекции и клеточных технологий отдела генетических ресурсов овощных и бахчевых культур, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, a.aslanova@vir.nw.ru, https://orcid.org/0009-0006-3429-0060

Анастасия Борисовна Курина, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, и.о. зав. лабораторией селекции и клеточных технологий отдела генетических ресурсов овощных и бахчевых культур, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, a.kurina@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0002-3197-4751

Information about the authors

Anastasiya A. Aslanova, Junior researcher, Laboratory of Breeding and Cell Technologies, Department of Genetic Resources of Vegetable and Cucurbit Crops, N.I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, a.aslanova@vir.nw.ru, https://orcid.org/0009-0006-3429-0060

Anastasiya B. Kurina, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Acting Head, Laboratory of Breeding and Cell Technologies at the Department of Genetic Resources of Vegetable and Cucurbit Crops, N.I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, a.kurina@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0002-3197-4751

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 10.07.2023; одобрена после рецензирования 31.07.2023; принята к публикации 25.09.2023.
The article was submitted on 10.07.2023; approved after reviewing on 31.07.2023; accepted for publication on 25.09.2023.

Научная статья
УДК 577.21:633.111.1
DOI: 10.30901/2658-6266-2023-3-o4

(cc) BY

Изучение линий мягкой пшеницы, полученных с участием синтетической формы Авродес, в отношении их устойчивости к жёлтой ржавчине

Э. Р. Давоян[1], И. В. Бебякина[1], Р. О. Давоян[1], Д. М. Болдаков[1], Е. Д. Бадаева[2], И. Г. Адонина[3], Е. А. Салина[3], А. Н. Зинченко[1], Ю. С. Зубанова[1]

[1]Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко, Краснодар, Россия
[2]Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия
[3]Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

Автор, ответственный за переписку: Эдвард Румикович Давоян, davayan@rambler.ru

Для передачи мягкой пшенице устойчивости к жёлтой ржавчине (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* Eriks.) от *Aegilops speltoides* Tausch, (2n = 14) использовалась синтетическая геномно-замещенная форма Авродес (AABBSS). Проведено изучение 24 интрогрессивных линий мягкой пшеницы, полученных с применением формы Авродес. Отобраны устойчивые к жёлтой ржавчине линии P07-L.02, P07-L.1, P07-L.17, P07-L.43, P07-L.19, AS12-88, AS12-06, AS12-07, AS12-51, Asp81-21, Asp63-21, Asp053-21, Asp04-21, Asp022-19, Asp023-19 и Asp029-20, которые могут быть использованы в качестве новых доноров устойчивости к болезни. С помощью дифференциального окрашивания хромосом (С-окраска) и флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) у линий идентифицирован генетический материал *Ae. speltoides*, переданный в форме замещения хромосомы 5S(5D) и транслокаций T5BS.5BL-5SL, T2DL.2DS-2SS, T5D, а также транслокация T1BL.1RS от *Secale cereale* L. В ходе работы выявлено, что линии с единичными транслокациями T1BL.1RS и T5BS.5BL-5SL были восприимчивы к жёлтой ржавчине, тогда как линии, у которых идентифицированы транслокация T2DL.2DS-2SS и замещения 5S(5D), а также линии с транслокациями T1BL.1RS, T2DL.2DS-2SS и T5D проявляли устойчивость к болезни. Предположительно, отобранные нами интрогрессивные линии, полученные с участием Авродес, могут нести новые гены или локусы устойчивости к жёлтой ржавчине.

***Ключевые слова*:** *T. aestivum, Ae. speltoides,* Авродес, интрогрессивные линии, устойчивость к жёлтой ржавчине

Благодарности: Генотипирование гибридного материала мягкой пшеницы методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) выполнено при поддержке проекта Министерства науки и высшего образования FWNR-2022-0017.

Для цитирования: Давоян Э.Р., Бебякина И.В., Давоян Р.О., Болдаков Д.М., Бадаева Е.Д., Адонина И.Г., Салина Е.А., Зинченко А.Н., Зубанова Ю.С. Изучение линий мягкой пшеницы, полученных с участием синтетической формы Авродес, в отношении устойчивости к жёлтой ржавчине. *Биотехнология и селекция растений*. 2023;6(3):25-34. DOI: 10.30901/2658-6266-2023-3-o4

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 местам работы.

© Давоян Э.Р., Бебякина И.В., Давоян Р.О., Болдаков Д.М., Бадаева Е.Д., Адонина И.Г., Салина Е.А., Зинченко А.Н., Зубанова Ю.С., 2023

Original article
DOI: 10.30901/2658-6266-2023-3-o4

A study of bread wheat lines from crosses with the synthetic form Avrodes in regard to their yellow rust resistance

Edward R. Davoyan[1], Irina V. Bebyakina[1], Rumik O. Davoyan[1], Dmitry M. Boldakov[1], Ekaterina D. Badaeva[2], Irina G. Adonina[3], Elena A. Salina[3], Alexandra N. Zinchenko[1], Yuliya S. Zubanova[1]

[1]National Center of Grain named after P.P. Lukyanenko, Krasnodar, Russia
[2]Vavilov Institute of General Genetics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
[3]Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

Corresponding author: Edward R. Davoyan, davayan@rambler.ru

The genome-substituted synthetic form Avrodes (AABBSS) was used for transferring resistance to yellow rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* Eriks.) from *Aegilops speltoides* Tausch, (2n = 14) to bread wheat. The study involved 24 introgressive lines of bread wheat obtained using the Avrodes form. Yellow rust resistant lines P07-L.02, P07-L.1, P07-L.17, P07-L.43, P07-L.19, AS12-88, AS12-06, AS12-07, AS12- 51, Asp81-21, Asp63-21, Asp053-21, Asp04-21, Asp022-19, Asp023-19 and Asp029-20 were selected and can be used as new donors of disease resistance. The use of differential chromosome staining (C-banding) and fluorescence *in situ* hybridization (FISH) identified the genetic material of *Ae. speltoides* transmitted in the form of 5S(5D) chromosome substitution and translocations of T5BS.5BL-5SL, T2DL.2DS-2SS, T5D, as well as translocation of T1BL.1RS from *Secale cereale* L. The work revealed that the lines with single translocations of T1BL.1RS and T5BS.5BL-5SL were susceptible to yellow rust, while the lines in which the T2DL.2DS-2SS translocation and 5S(5D) substitutions were identified, as well as the lines with translocations of T1BL.1RS, T2DL.2DS-2SS and T5D showed resistance to the disease. Presumably, the selected introgression lines, obtained by means of crosses with Avrodes, may carry new genes or loci for yellow rust resistance.

Keywords: *T. aestivum, Ae. speltoides,* Avrodes, introgressive lines, resistance to yellow rust.

Acknowledgments: Genotyping of bread wheat hybrid material using fluorescence *in situ* hybridization (FISH) was supported by the Ministry of Science and Higher Education project FWNR-2022-0017

For citation: Davoyan E.R., Bebyakina I.V, Davoyan R.O., Boldakov D.M., Badaeva E.D., Adonina I.G., Salina E.A., Zinchenko A.N., Zubanova Yu.S. A study of bread wheat lines from crosses with the synthetic form Avrodes in regard to their yellow rust resistance. *Plant Biotechnology and Breeding.* 2023;6(3):25-34. DOI: 10.30901/2658-6266-2023-3-o4

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.

© Davoyan E.R., Bebyakina I.V, Davoyan R.O., Boldakov D.M., Badaeva E.D., Adonina I.G., Salina E.A., Zinchenko A.N., Zubanova Yu.S., 2023

Введение

Жёлтая ржавчина, вызываемая грибом *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* Eriks. является одним из наиболее вредоносных и широко распространенных в мире заболеваний мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L). Потери урожая пшеницы от болезни могут доходить до 5%, а в некоторых случаях до 25% (Wellings, 2011). Однако, если инфицирование происходит на ранних стадиях и продолжается в течение всего вегетационного периода, потеря урожая отдельных восприимчивых сортов пшеницы может составлять 100% (Chen et al., 2010).

Как правило, заражение растений ассоциировалось с прохладными погодными условиями, однако появление новых рас гриба, устойчивых к более высоким температурам, привело к расширению ареала патогена и повышению потери урожая культурной пшеницы. Сильное поражение пшеницы жёлтой ржавчиной наблюдалось в 2000 году в США и было вызвано появлением новых, нетипичных для Северной Америки рас, вирулентных по отношению к сортам с генами *Yr8* и *Yr9*, которые в настоящее время встречаются во всем мире (Milus et al., 2009). Эти новые расы были широко представлены в центральной части Соединенных Штатов и нанесли значительный экономический ущерб сельскому хозяйству в период с 2000 по 2005 год (Chen, 2005). В тот же период времени эпифитотии жёлтой ржавчины были отмечены в большинстве районов выращивания пшеницы в Западной Европе (Chen, 2005; Mboup et al., 2012), Центральной и Восточной Азии (Sharma-Poudyal et al., 2013; Kokhmetova et al., 2018), на Ближнем Востоке, в Северной и Южной Африке (Sharma-Poudyal et al., 2013), и в Австралии (Wellings et al., 2007). В 2011 году во многих европейских странах были обнаружены новые расы, Warrior и Kranich, которые продемонстрировали более высокую генетическую изменчивость по сравнению с расами предыдущих клональных популяций (Hovmøller et al., 2016). В своём исследовании A. Wan с соавторами (Wan et al., 2017) провели сравнение рас Pst, выявленных в Эфиопии на мягкой и твердой пшенице, с расами, идентифицированными в других странах. Среди 18 рас, выявленных в настоящем исследовании, расы PstV-41, PstV-47, PstV-72 и PstV-76 ранее были идентифицированы в Соединенных Штатах Америки (Wan et al., 2017), а остальные 14 были выявлены впервые.

На территории России, прежде всего в Северо-Кавказском регионе, начиная с 1990 года отмечается устойчивая тенденция расширения ареала возбудителя жёлтой ржавчины. В результате проведенных исследований северокавказской популяции *P. striiformis* установлено, что даже в неблагоприятных для патогена условиях болезнь фиксируется на территории региона ежегодно, а в отдельных районах встречаются очаги болезни с поражением до 50% (Volkova et al., 2020). Авторами определено, что эффективными генами устойчивости к жёлтой ржавчине являются *Yr3, Yr5, Yr26, YrSp*. С использованием изогенных линий Avocet с 20 генами *Yr*, а также международного набора сортов-дифференциаторов, был проведён сравнительный анализ популяций возбудителя в географически отдаленных регионах России (Shaydayuk, Gultyaeva, 2020). Предварительные исследования выявили географическую дифференциацию популяций возбудителя в регионах России. Все изоляты, проанализированные на изогенных линиях Avocet, оказались авирулентными по отношению к линиям с генами *Yr5, Yr10, Yr15, Yr17, Yr24, Yr26* и вирулентными по отношению к линиям с *Yr6, Yr7, Yr8, Yr9, Yr18, YrSp, YrSk (27), YrAS*. Варьирование показателей поражаемости наблюдалось у линий с генами *Yr1, Yr8, Yr11* и *Yr12*. Создание устойчивых сортов является экологически и экономически наиболее целесообразным подходом для защиты от данной болезни. Расширение расового состава и ареала *P. striiformis* в мире и на территории России обуславливает необходимость поиска и создания новых источников и доноров генов устойчивости к жёлтой ржавчине.

Большой интерес в качестве источников устойчивости к болезням представляют различные виды эгилопсов и, в частности, *Aegilops speltoides* Tausch (Migushova, Grigorieva, 1973; Kerber, Dyck, 1990; Jiang et al., 1993). Для передачи генетического материала от *Ae. speltoides* в мягкую пшеницу была использована геномно-замещенная форма Авродес, которая проявляет устойчивость к ряду листостебельных болезней, в том числе и к жёлтой ржавчине (Davoyan et al., 2012). С ее участием получен большой набор интрогрессивных линий, которые, предположительно, могут нести новые гены устойчивости к жёлтой ржавчине от *Ae. speltoides*.

С целью создания нового исходного материала для селекции мягкой пшеницы на устойчивость к жёлтой ржавчине проведено изучение интрогрессивных линий мягкой пшеницы *T. aestivum*/Авродес по устойчивости к жёлтой ржавчине и наличию у них транслокаций и замещенных хромосом от *Ae. speltoides*.

Материал и методы

Исходным материалом служили 24 интрогрессивные линии мягкой пшеницы, полученные от скрещивания синтетической формы Авродес с реципиентными сортами ‘Аврора’, ‘Кавказ’ и ‘Краснодарская 99’ селекции Национального центра зерна им. П.П. Лукьяненко. Краткое обозначение, происхождение и количество исследуемых линий представлено в таблице 1.

Таблица 1. Наименование, происхождение и количество интрогрессивных линий

Table 1. Name, origin and number of introgression lines

Обозначение линии / Line designation	Комбинация скрещивания / Crossing combination	Поколение / Generation	Количество линий / Number of lines
PL	Авродес × ‘Аврора’	BC_2F_{24} - BC_5F_{20}	6
Asp	Авродес × ‘Кавказ’	BC_2F_{24} - BC_5F_{20}	11
AS	(Авродес × ‘Аврора’) × ‘Краснодарская 99’	BC_2F_{10} - BC_4F_6	7

Геномно-замещенная форма Авродес (AABBSS) создана путем замещения генома D сорта ‘Аврора’ на геном S от *Ae. speltoides* (Zhirov, Ternovskaya, 1984). Данная форма абсолютно устойчива к листовой, стеблевой, жёлтой ржавчинам и к мучнистой росе. Кроме того, эта форма имеет высокое, более 22%, содержание белка в зерне.

Оценку по устойчивости к жёлтой ржавчине проводили в полевых условиях на фоне естественного и искусственного заражения растений при достижении максимальных показателей поражаемости (тип реакции 4, степень поражения 60%) у наиболее восприимчивого и позднего по созреванию сорта-реципиента ‘Аврора’. Растения линий заражали в фазе выхода в трубку смесью уредоспор жёлтой ржавчины, собранных с растений разных сортов пшеницы. Тип реакции растений на заражение болезнью определяли по шкале Гасснера и Штрайба (Gassner, Straib, 1932). К устойчивым относили растения с типом реакции 0 (иммунные), 1 (высокоустойчивые) и 2 (умеренно устойчивые). Устойчивые растения с промежуточным типом реакции от 0 до 1 (единичные очень мелкие пустулы с некрозом) обозначали баллом 01. Степень поражения растений оценивали по модифицированной шкале Кобба (Peterson et al., 1948). К устойчивым относили растения со степенью поражения от 0 до 20%.

Дифференциальное окрашивание хромосом (С-окраска, C-banding) проводили в Институте общей генетики им. Н.И. Вавилова согласно методике, разработанной Е.Д. Бадаевой с соавторами (Badaeva et al., 1994). Генотипирование гибридного материала мягкой пшеницы методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) проводили в Институте цитологии и генетики СО РАН по опубликованной ранее методике (Salina et al., 2006). В работе были использованы зонды pScl19.2 (Bedbrook et al., 1980) и pAs1 (Rayburn, Gill, 1986) для идентификации хромосом пшеницы (Schneider et al., 2003), а также Spelt1 (Salina et al., 2004) – для выявления генетического материала *Ae. speltoides* в исследуемых линиях. Препараты хромосом после FISH анализировали в Центре коллективного пользования ЦКП микроскопического анализа биологических объектов СО РАН (Новосибирск).

Так как синтетическая форма Авродес и сорта-реципиенты ‘Аврора’ и ‘Кавказ’ имеют транслокацию T1BL.1RS со сцепленными генами устойчивости *Lr26/Sr31/Yr9/Pm9*, проведен ДНК-анализ линий на наличие гена устойчивости к жёлтой ржавчине *Yr9*. ДНК пшеницы выделяли из 5-7-дневных этиолированных проростков с использованием коммерческого набора «МагноПрайм® ФИТО», производства компании «НекстБио» (Россия, URL: https://nextbio.ru [дата обращения: 17.08.2023]) Идентификацию гена *Yr9* осуществляли с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) с применением праймеров *SCM9/F/R,* маркирующих пшенично-ржаную транслокацию T1RS.1BL (Weng et al., 2007). Температура отжига составляла 60ºС, размер диагностического фрагмента – 207 пн. Продукты ПЦР разделяли с помощью электрофореза в 1,8% агарозном геле с 1× буфером TBE. Гели окрашивали бромистым этидием и фотографировали в ультрафиолетовом свете с помощью фотобокса «INFINITI 1000» производства компании Vilber Lourmat, (Франция, URL: https://www.vilber.com/infinity [дата обращения: 17.08.2023]). В качестве молекулярного маркера для определения размера фрагментов продуктов ПЦР использовали ДНК-маркер M24 100 пн «СибЭнзим» (Россия, URL: https://sibenzyme.com [дата обращения: 17.08.2023]). Положительным контролем для определения известного гена *Yr9* была использована почти изогенная линия TcLr26, с геном устойчивости к листовой ржавчине *Lr26*, выделенная из сорта ‘Thatcher’.

Результаты

Результаты оценки изучаемого материала по устойчивости к жёлтой ржавчине представлены в таблице 2. Синтетическая форма Авродес проявляла полный иммунитет, симптомы поражения отсутствовали. Высокой устойчивостью к болезни обладали интрогрессивные линии P07-L.17, P07-L.19, Asp053-21, Asp04-21, Asp029-20, AS12-06, AS12-07, AS12-51, AS12-88 (тип реакции 01, степень поражения до 5%). К устойчивым были отнесены линии P07-L.1, P07-L.43, Asp81-21, Asp63-21 (тип реакции 1, степень поражения до 10%). Умеренную устойчивость (тип реакции 2, степень поражения до 20%) проявили линии P07-L.02, Asp022-19, Asp023-19. К умеренно-восприимчивым (тип реакции 2-3, степень поражения до 40%) были отнесены линии AS12-02, AS12-09, Asp047-21, Asp031-20.

Линии AS12-15, P07-L.21, Asp071-21, Asp091-24 были полностью восприимчивыми (тип реакции 3-4, степень поражения свыше 50%). Высокую восприимчивость к жёлтой ржавчине проявили сорта-реципиенты ‘Аврора’, ‘Кавказ’, ‘Краснодарская 99’ и линия TcLr26, выделенная из сорта ‘Thatcher’.

Таблица 2. Устойчивость к жёлтой ржавчине синтетической формы Авродес, интрогрессивных линий, сортов ‘Аврора’, ‘Кавказ’, ‘Краснодарская 99’ и линии TcLr26

Table 2. Resistance to yellow rust of the synthetic form Avrodes, introgressive lines obtained from it, varieties ‘Aurora’, ‘Kavkaz’, ‘Krasnodarskaya 99’ and the line TcLr26

Материал / Material	Тип реакции и степень поражения / Type of reaction and the degree of damage	
	балл / point	%
Авродес	0	0
P07-L.17, P07-L.19, Asp053-21, Asp04-21, Asp029-20, AS12-06, AS12-07, AS12-51, AS12-88	01	0-5
P07-L.1, P07-L.43, Asp81-21, Asp63-21	1	5-10
P07-L.02, Asp022-19, Asp023-19	2	15-20
AS12-02, AS12-09, Asp047-21, Asp031-20	2-3	35-40
AS12-15, P07-L.21, Asp071-21, Asp091-24, TcLr26, ‘Кавказ’	3	40-60
‘Аврора’, ‘Краснодарская 99’	4	60

В целом, разнообразие изучаемых нами линий по степени устойчивости может свидетельствовать о различии переданного им чужеродного генетического материала и, как следствие, о наличии у них разных генов устойчивости к жёлтой ржавчине.

Для выявления чужеродного генетического материала в линиях пшеницы, а также определения формы его передачи, применялись методы дифференциального окрашивания хромосом (С-окраска) и флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH). С применением метода С-окраски на наличие хромосомных перестроек были изучены линии P07-L.21, AS12-88, AS12-06, Asp071-21, AS12-07 и Asp091-24 (табл. 3). У всех линий за исключением P07-L.21 и Asp071-21 выявлена транслокация T1RS.1BL между коротким плечом первой хромосомы ржи и длинным плечом хромосомы 1B пшеницы. У линий P07-L.21 и Asp071-21 обнаружена транслокация T5BS.5BL-5SL. Линии AS12-88, AS12-06, AS12-07, наряду с транслокацией T2DL.2DS-2SS, несут замещение 5D хромосомы мягкой пшеницы на 5S от Авродес (рис.1).

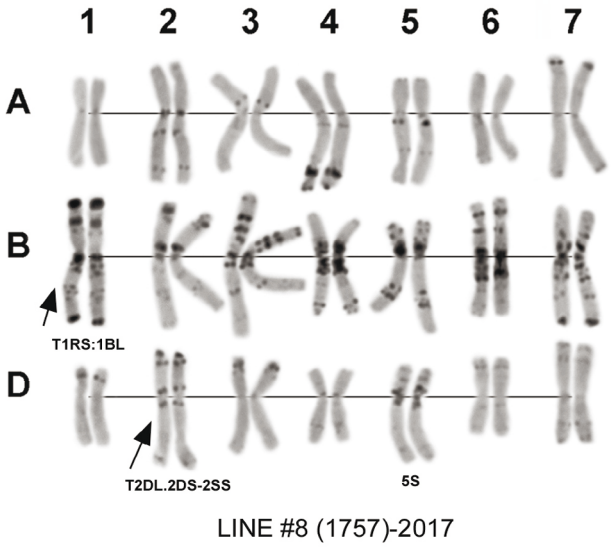


Рис. 1. С-окрашенный кариотип интрогрессивной линии AS12-88

Fig. 1. C-stained karyotype of the introgression line AS12-88

Методом FISH с применением зондов pAs1, pSc119.2 и Spelt1 проведено генотипирование восьми линий мягкой пшеницы с целью выявления хромосомных районов, содержащих различные перестройки (см. табл. 3). У линий AS12-02, AS12-09, AS12-15, AS12-51, Asp047-21 и Asp091-24 идентифицирована транслокация T1RS.1BL с участием первой хромосомы ржи. Транслокация T5BS.5BL-5SL выявлена у линий P07-L.21 и Asp071-21. У линии AS12-51 обнаружены ранее неизвестные транслокации от *Ae. speltoides* T2DL.2DS-2SS и T5D, а также транслокация T1BL.1RS (рис. 2).

Таблица 3. Результаты анализа интрогрессивных линий, полученных с участием формы Авродес, методами С-окраски и FISH

Table 3. Results of analysis of introgression lines from crosses with the Avrodes form using the methods of C-banding and FISH

Материал/ Material	Вид хромосомных перестроек	
	Транслокация/ Translocation	Замещение/ Substitution
С-окраска/ C-banding		
P07-L.21	T5BS.5BL-5SL	
AS12-06	T1BL.1RS, T2DL.2DS-2SS	5D(5S)
AS12-07	T1BL.1RS, T2DL.2DS-2SS	5D(5S)
AS12-88	T1BL.1RS, T2DL.2DS-2SS	5D(5S)
Asp071-21	T5BS.5BL-5SL	
Asp091-24	T1BL.1RS	
FISH		
P07-L.21	T5BS.5BL-5SL	
AS12-02	T1BL.1RS	
AS12-09	T1BL.1RS	
AS12-15	T1BL.1RS	
AS12-51	T1BL.1RS, T2DL.2DS-2SS, T5D	
Asp071-21	T5BS.5BL-5SL	
Asp047-21	T1BL.1RS	
Asp091-24	T1BL.1RS	

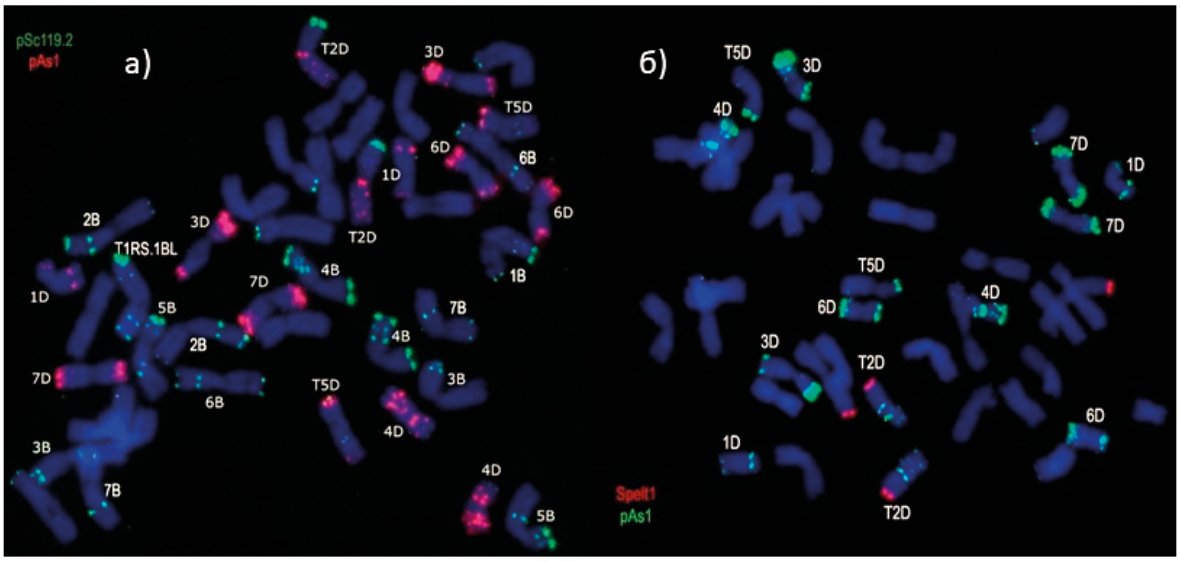


Рис. 2. Флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) на метафазных хромосомах линии AS12-51
а) с зондами pAs1 (красный) и pSc119.2 (зелёный); б) с зондами Spelt1 (красный) и pAs1 (зеленый)

Fig. 2. Fluorescent *in situ* hybridization (FISH) on metaphase chromosomes of the line AS12-51
a) with probes pAs1 (red) and pSc119.2 (green); b) with probes Spelt1 (red) and pAs1 (green)

Исходя из результатов оценки устойчивости линий и их сравнения с данными, полученными при применении цитогенетических и молекулярно-цитогенетических методов, можно сделать следующие выводы. Линии Asp091-24, AS12-02, AS12-09, AS12-15, Asp047-21 и Asp091-24, у которых выявлена единичная транслокация T1RS.1BL, а также линии P07-L.21 и Asp071-21, у которых идентифицировано наличие транслокации T5BS.5BL-5SL, были восприимчивы к жёлтой ржавчине. Линии AS12-06, AS12-07 и AS12-88, у которых идентифицированы транслокация T2DL.2DS-2SS и замещение 5D(5S), а также линия AS12-51 с транслокациями T1BL.1RS, T2DL.2DS-2SS и T5D, проявляли устойчивость к болезни.

Следует отметить, что только 11 линий были изучены методами С-окраски и FISH, при этом у девяти из них была идентифицирована транслокация T1BL.1RS. Для подтверждения этих результатов и анализа остальных линий была проведена ПЦР с праймерами к ДНК-маркеру SCM9, созданному для идентификации данной транслокации. Диагностический маркер выявлен у линий AS12-06, AS12-07, AS12-88, Asp091-24, AS12-02, AS12-09, AS12-15, AS12-51, Asp047-21, что подтверждает результаты, полученные с применением С-окраски и FISH. Данный ДНК-маркер также обнаружен у линий P07-L.1, P07-L.02, P07-L.43, P07-L.19, Asp053-21, Asp022-19, Asp023-19, у синтетической формы Авродес, у сортов ‘Аврора’ и ‘Кавказ’ (рис. 3).

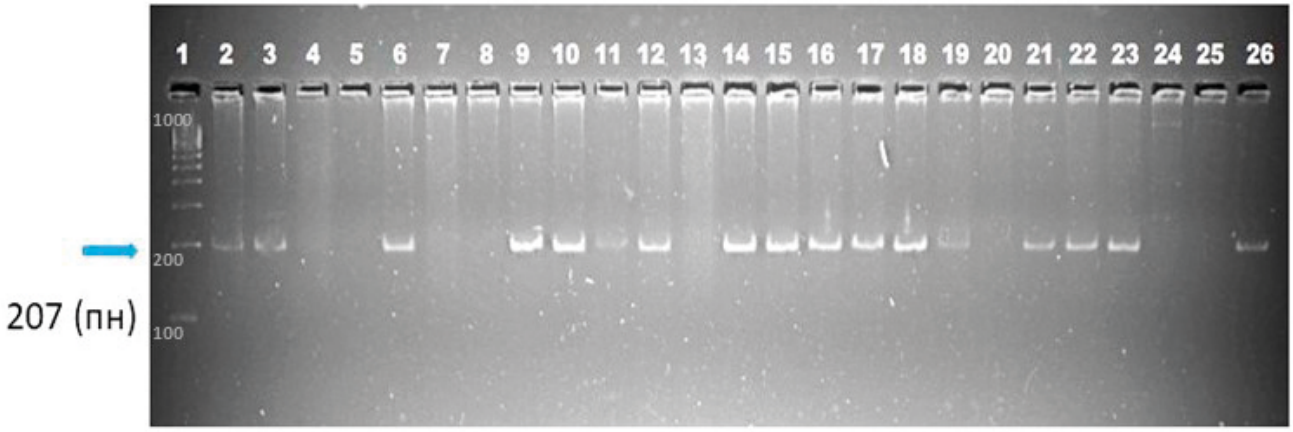


Рис. 3. Электрофореграмма продуктов амплификации с использованием праймеров SCM9/F/R к диагностическому маркёру, сцепленному с геном *Yr9*

1 – маркёр длины фрагмента; 2 – ‘Аврора’, 3 – Авродес; 4-26 – интрогрессивные линии; 6 – линия P07-L.19; 9 – Asp053-21; 10 – AS12-06; 11 – AS12-07; 12 – AS12-51; 14 – P07-L.1; 15 – P07-L.43; 16 – P07-L.02; 17 – Asp022-19; 18 – Asp023-19; 19 – AS12-02; 21 – AS12-09; 22 – AS12-15; 23 – Asp047-21; 26 – Asp091-24

Fig. 3. Electrophoregram of amplification products using primers SCM9/F/R to a diagnostic marker linked to the *Yr9* gene

1 – fragment length marker; 2 – ‘Aurora’, 3 – Avrodes; 4-26 – introgression lines: 6 – P07-L.19; 9 – Asp053-21; 10 – AS12-06; 11 – AS12-07; 12 – AS12-51; 14 – P07-L.1; 15 – P07-L.43; 16 – P07-L.02; 17 – Asp022-19; 18 – Asp023-19; 19 – AS12-02; 21 – AS12-09; 22 – AS12-15; 23 – Asp047-21; 26 – Asp091-24

Предположительно, выше охарактеризованные линии несут ген *Yr9* от *S. cereale.* Следует отметить, что линии AS12-02, AS12-09, AS12-15, Asp047-21, Asp091-24 были восприимчивы к жёлтой ржавчине.

Обсуждение

Использование генетического разнообразия дикорастущих сородичей для переноса в мягкую пшеницу ценных признаков является актуальной задачей селекции. Применение синтетической формы Авродес в селекции предполагало, в первую очередь, передачу мягкой пшенице устойчивости к болезням и, в том числе, к жёлтой ржавчине. Оценка изучаемого материала позволила отобрать устойчивые к данной болезни линии P07-L.17, P07-L.19, Asp053-21, Asp04-21, Asp029-20, AS12-06, AS12-07, AS12-51, AS12-88, P07-L.1, P07-L.43, Asp81-21, Asp63-21, P07-L.02, Asp022-19, Asp023-19.

Исходя из родословных изучаемых линий, они могли нести ген устойчивости к жёлтой ржавчине *Yr9,* который, вероятно, передан от сортов ‘Аврора’ и ‘Кавказ’ в составе транслокации T1BL.1RS. ДНК-маркер SCM9, разработанный для идентификации данной транслокации, был выявлен у 16 изученных линий. Однако, как уже отмечалось, расы, вирулентные по отношению к растениям-хозяевам, характеризующимся генами устойчи-

вости *Yr8* и *Yr9*, в настоящее время встречаются по всему миру (Milus et al., 2009). Таким образом, присутствие гена *Yr9* в исследуемых линиях не может обеспечивать их устойчивость к болезни. Несмотря на то, что ген потерял эффективность, он может способствовать повышению уровня общей устойчивости к жёлтой ржавчине в сочетании с другими генами *Yr*. Вместе с тем, в большинстве регионов Российской Федерации эффективность обеспечения устойчивости к стеблевой ржавчине, связанной с транслокацией T1BL.1RS, а в ряде регионов – и устойчивости к мучнистой росе, остаётся высокой (Gultyaeva et al., 2015).

Цитогенетическими и молекулярно-цитогенетическими методами анализа у ряда линий выявлен генетический материал от *Ae. speltoides*, переданный в форме транслокаций T2DL.2DS-2SS, T5D и замещения хромосомы 5S (5D). Об использовании данных транслокаций в селекции мягкой пшеницы впервые сообщалось в наших более ранних работах (Davoyan et al., 2017; 2021). Мы изучили интрогрессивные линии, полученные с участием синтетических форм Авродес и RS7 (AABBUS), на устойчивость к листовой ржавчине (*Puccinia triticina* Eriks.). За исключением этих работ, в литературе не встречается сведений о получении, изучении и использовании таких транслокаций в селекционном процессе, поэтому они представляют большой интерес для дальнейшего изучения. Высокая устойчивость к жёлтой ржавчине, 01 балла у линий AS12-06, AS12-07 и AS12-88, может быть обусловлена наличием транслокации T2DL.2DS-2SS и замещения 5D(5S), а в случае линии AS12-51 – транслокаций T1RS.1BL, T2DL.2DS-2SS и T5D. У линий P07-L.21 и Asp071-21 была обнаружена транслокация T5BS.5BL-5SL, впервые охарактеризованная Адониной и др. (Adonina et al., 2012), однако данная транслокация не обеспечивала устойчивости этих линий к жёлтой ржавчине. В то же время линии P07-L.21 и Asp071-21 могут представлять интерес как доноры устойчивости к листовой ржавчине, так как в составе T5BS.5BL-5SL содержится эффективный на территории России ген устойчивости *LrAsp5* (Adonina et al., 2021).

В настоящее время известно около 80 генов устойчивости к жёлтой ржавчине, большинство из которых происходит от мягкой пшеницы (Wang, Chen, 2017). Несмотря на то, что некоторые из этих генов были получены от дикорастущих видов, ранее не сообщалось о передаче мягкой пшенице генов *Yr* от *Ae. speltoides.* Использовавшиеся в скрещиваниях сорта ‘Аврора’, ‘Кавказ’ и ‘Краснодарская 99’ сильно поражались жёлтой ржавчиной и не могли служить донорами устойчивости. Таким образом, можно предположить, что отобранные нами интрогрессивные линии P07-L.02, P07-L.1, P07-L.17, P07-L.43, P07-L.19, AS12-88, AS12-06, AS12-07, AS12-51, Asp81-21, Asp63-21, Asp053-21, Asp04-21, Asp022-19, Asp023-19 и Asp029-20, полученные в результате скрещиваний с Авродес, могут нести новые гены или локусы устойчивости к жёлтой ржавчине.

Заключение

В результате проведённых исследований отобран новый селекционный материал – устойчивые к жёлтой ржавчине интрогрессивные линии мягкой пшеницы: P07-L.02, P07-L.1, P07-L.17, P07-L.43, P07-L.19, AS12-88, AS12-06, AS12-07, AS12-51, Asp81-21, Asp63-21, Asp053-21, Asp04-21, Asp022-19, Asp023-19 и Asp029-20. Эти линии могут быть использованы в качестве доноров в селекционных программах по созданию устойчивых к данной болезни форм пшеницы. Применение цитогенетического и молекулярно-цитогенетического методов анализа позволило у ряда линий выявить генетический материал от *Ae. speltoides*, переданный в форме транслокаций T2DL.2DS-2SS, T5D и замещения хромосомы 5D(5S). Предположительно, линии с идентифицированными интрогрессиями могут нести новые гены (или локусы) устойчивости к жёлтой ржавчине.

References/Литература

Adonina I.G., Petrash N.V., Timonova E.M., Khristov Y.A., Salina E.A. Construction and study of leaf rust resistant common wheat lines with translocations of *Aegilops speltoides* Tausch. *Russian Journal of Genetics*. 2012;48(4):404-409. DOI: 10.1134/S1022795412020020

Adonina I.G., Timonova E.M., Salina E.A. Introgressive hybridization of common wheat: results and prospects. *Russian Journal of Genetics*. 2021;57(4):390-407. DOI: 10.1134/s1022795421030029

Badaeva E.D., Badaev N.S., Gill B.S., Filatenko A.A. Interspecific karyotype divergence in *Triticum araraticum*. *Plant Systematics and Evolution*. 1994;192(1):117-145.

Bedbrook J.R., Jones J., O'Dell M., Thompson R.D., Flavell R.B. A molecular description of telomeric heterochromatin in secale species. *Cell*. 1980;19(2):545-560. DOI: 10.1016/0092-8674(80)90529-2

Chen X.M., Epidemiology and control of stripe rust [*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*] on wheat. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 2005;27:314-337. DOI: 10.1080/07060660509507230

Chen X.M., Penman L., Wan A.M., Cheng P. Virulence races of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in 2006 and 2007 and development of wheat stripe rust and distributions, dynamics, and evolutionary relationships of races from 2000 to 2007 in the United States. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 2010;32(3):315-323. DOI: 10.1080/07060661.2010.499271

Davoyan R.O., Bebyakina I.V. Davoyan O.R., Zinchenko A.N., Davoyan E.R., Kravchenko A.M., Zubanova Y.S. Use of synthetic forms in the preservation and exploitation of the gene pool of wild common wheat relatives. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2012;16(1):44-51. [in Russian] (Давоян Р.О., Бебякина И.В. Давоян О.Р., Зинченко А.Н., Давоян Э.Р., Кравченко А.М., Зубанова Ю.С. Синтетические формы как основа для сохранения и использования генофонда диких сородичей мягкой пшеницы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2012;16(1):44-51).

Davoyan R.O., Bebyakina I.V., Davoyan E.R., Mikov D.S., Badaeva E.D., Adonina I.G., Salina E.A., Zinchenko A.N., Zubanova Y.S. Use of a synthetic form Avrodes for transfer of leaf rust resistance from *Aegilops speltoides* to common wheat. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2017;21(6):663-670. [in Russian] (Давоян Р.О., Бебякина И.В., Давоян Э.Р., Миков Д.С., Бадаева Е.Д., Адонина И.Г., Салина Е.А., Зинченко А.Н., Зубанова Ю.С. Использование синтетической формы Авродес для передачи устойчивости к листовой ржавчине от *Aegilops speltoides* мягкой пшенице. *Вавиловский журнал генетики селекции*. 2017;21(6): 663-670).

DOI: 10.18699/VJ17.284
Davoyan R.O., Bebyakina I.V., Davoyan E.R., Zubanova Yu.S., Boldakov D.M., Mikov D.S., Bibishev V.A., Zinchenko A.N., Badaeva E.D. Using the synthetic form RS5 to obtain new introgressive lines of common wheat. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(7):770-777. [in Russian] (Давоян Р.О., Бебякина И.В., Давоян Э.Р., Зубанова Ю.С., Болдаков Д.М., Миков Д.С., Бибишев В.А., Зинченко А.Н., Бадаева Е.Д. Использование синтетической формы RS5 для получения новых интрогрессивных линий мягкой пшеницы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;25(7):770-777). DOI: 10.18699/VJ21.088
Gassner G., Straib W. Die Bestimmung der biologischen Rassen des Weizengelbrostes *Puccinia glumarum* f. sp. *tritici* Schmidt Erikss. und Henn. Berlin: Arbeiten biologische Reichsanst. 1932;21:141-163.
Zhirov E.G., Ternovskaya T.K. Genomic engineering in wheat. *Vestnik Selskokhozyaystvennoy Nauki = Herald of Agricultural Sciences*. 1984;10:58-66. [in Russian] (Жиров Е.Г., Терновская Т.К. Геномная инженерия у пшеницы. *Вестник сельскохозяйственной науки*. 1984;10:58-66).
Gultyaeva E.I., Shaidayuk E.L., Kazartsev I.A., Aristova M.K. Structure of Russian populations of the fungus *Puccinia triticina* Eriks. *Plant Protection News*. 2015;3(85):5-10. [in Russian] (Гультяева Е.И., Шайдаюк Е.Л., Казарцев И.А., Аристова М.К. Структура российских популяций гриба *Puccinia triticina* Eriks. *Вестник защиты растений*. 2015;3(85):5-10).
Hovmøller M.S., Walter S., Bayles R.A., Hubbard A., Flath K., Sommerfeldt N., Leconte M., Czembor P., Rodriguez-Algaba J., Thach T., Hansen J.G., Lassen P., Justesen A.F., Ali S., de Vallavieille-Pope C. Replacement of the European wheat yellow rust population by new races from the center of diversity in the near-Himalayan region. *Plant Pathology*. 2016;65(3):402-411. DOI: 10.1111/ppa.12433
Jiang J., Fribe B., Gill B.S. Recent advances in alien gene transfer in wheat. *Euphytica*. 1993;73:199-212. DOI: 10.1007/BF00036700
Kerber E.R., Dyck P.L. Transfer to hexaploid wheat of linked genes for adult-plant leaf rust and seedling stem rust resistance from an amphiploid of *Aegilops speltoides* × *Triticum monococcum*. *Genome*. 1990;33(4):530-537. DOI: 10.1139/g90-079
Kokhmetova A., Sharma R., Rsaliyev S., Galymbek K., Baymagambetova K., Ziyaev Z., Morgounov A. Evaluation of Central Asian wheat germplasm for stripe rust resistance. *Plant Genetic Resources*. 2018;16(2):178-184. DOI: 10.1017/S1479262117000132
Mboup M., Bahri B., Leconte M., De Vallavieille-Pope C.; Kaltz O., Enjalbert J. Genetic structure and local adaptation of European wheat yellow rust populations: The role of temperature-specific adaptation. *Evolutionary applications*. 2012;5(4):341-352. DOI: 10.1111/j.1752-4571.2011.00228.x
Migushova E.F., Grigorieva O.G. Resistance of *Aegilopses* to brown rust. *Bulletin of applied botany, genetics and plant breeding*. 1973;50(1):227-243. [in Russian] (Мигушова, Э.Ф., Григорьева О.Г. Устойчивость эгилопсов к бурой ржавчине. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 1973;50(1):227-243).
Milus E.A., Kristensen K., Hovmøller M.S. Evidence for increased aggressiveness in a recent widespread strain of *Puccinia striiformis* f. sp. *Tritici* causing stripe rust of wheat. *Phytopathology.* 2009;99(1):89-94. DOI: 10.1094/PHYTO-99-1-0089
Peterson R.F., Cambell A.B., Hannah A.E. A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals. *Canadian Journal of Research*. 1948;26c:496-500. DOI: 10.1139/cjr48c-033
Salina E.A., Adonina I., Vatolina T., Kurata N. Comparative analysis of the composition and organization of two subtelomeric repeat families in *Aegilops speltoides* Tausch. and related species. *Genetica*. 2004;122(3):227-237. DOI: 10.1007/s10709-004-5602-7
Salina E.A., Lim Y.K., Badaeva E.D., Shcherban A.B., Adonina I.G., Amosova A.V., Samatadze T.E., Vatolina T.Yu., Zoshchuk S.A., Leitch A.A. Phylogenetic reconstruction of *Aegilops* section *Sitopsis* and the evolution of tandem repeats in the diploids and derived wheat polyploids. *Genome*. 2006;49:1023-1035. DOI: 10.1139/G06-050
Sharma-Poudyal D., Chen X.M., Wan A.M., Zhan G.M., Kang Z.S., Cao S.Q., Jin S.L., Morgounov A., Akin B., Mert Z., Shah S.J.A., Bux H., Ashraf M., Sharma R.C., Madariaga R., Puri K.D., Wellings C., Xi K.Q., Wanyera R., Manninger K., González M.I., Koyda M., Sanin S., Patzek L.J. Virulence characterization of international collections of the wheat stripe rust pathogen, *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Plant Disease*. 2013;97(3):379-386. DOI: 10.1094/PDIS-01-12-0078-RE
Rayburn A.L., Gill B.S. Isolation of a D-genome specific repeated DNA sequence from *Aegilops squarrosa*. *Plant Molecular Biology Reporter*. 1986;4(2):102-109. DOI: 10.1007/BF02732107
Schneider A., Linc G., Molnár-Láng M., Graner A. Fluorescence *in situ* hybridization polymorphism using two repetitive DNA clones in different cultivars of wheat. *Plant Breeding*. 2003;122(5):396-400. DOI: 10.1046/j.1439-0523.2003.00891.x
Shaydayuk E.L., Gultyaeva E.I. Population studies of causative agent of wheat yellow rust in the Northwest Russia. *BIO Web of Conferences*. 2020;23:01006. DOI: 10.1051/bioconf/20202301006
Volkova G.V., Matveeva I.P., Kudinova O.A. Virulence of the wheat stripe rust pathogene population in the North-Caucasus Region of Russia. *Mikologiya i Fitopatologiya = Mycology and Phytopathology*. 2020;54;(1):33-41. [in Russian] (Волкова Г.В., Матвеева И.П., Кудинова О.А. Вирулентность популяции возбудителя желтой ржавчины пшеницы в Северо-Кавказском регионе России. *Микология и фитопатология*. 2020;54;(1):33-41).
Wan A., Muleta K.T., Zegeye H., Hundie B., Pumphrey M., Chen X. Virulence characterization of wheat stripe rust fungus *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Ethiopia and evaluation of Ethiopian wheat germplasm for resistance to races of the pathogen from Ethiopia and the United States. *Plant Disease.* 2017;101(1):73-80. DOI: 10.1094/PDIS-03-16-0371-RE
Wang M., Chen X. Stripe Rust Resistance. In: X.M. Chen, Z.S. Kang (eds). *Stripe Rust*. Dordrecht: Springer; 2017. p.353-558. DOI: 10.1007/978-94-024-1111-9_5
Wellings C.R. Global status of stripe rust: a review of historical and current threats. *Euphytica*, 2011;179(1):129-141. DOI: 10.1007/s10681-011-0360-y
Wellings C.R. *Puccinia striiformis* in Australia: A review of the incursion, evolution, and adaptation of stripe rust in the period 1979–2006. *Australian Journal of Agricultural Research*. 2007;58(6):567-575. DOI: 10.1071/AR07130
Weng Y., Azhaguvel P., Devkota R.N., Rudd J.C. PCR-based markers for detection of different sources of 1AL.1RS and 1BL.1RS wheat-rye translocations in wheat background. *Plant Breeding*. 2007;126(5):482-486. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2007.01331.x

Информация об авторах

Эдвард Румикович Давоян, доктор биологических наук, заведующий, отдел биотехнологии, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко», 350012 Россия, Краснодар, Центральная Усадьба КНИИСХ, davoyan.edvard@bk.ru, https://orcid.org/0009-0007-2786-617X

Ирина Викторовна Бебякина, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, отдел биотехнологии, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко», 350012 Россия, Краснодар, Центральная Усадьба КНИИСХ, irina.bebyakina@yandex.ru, https://orcid.org/0009-0001-9389-6234

Румик Оганесович Давоян, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, отдел биотехнологии, Федеральное государственное

бюджетное научное учреждение «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко», 350012 Россия, Краснодар, Центральная Усадьба КНИИСХ, davoyanro@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-9495-2026
Дмитрий Максимович Болдаков, научный сотрудник, отдел биотехнологии, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко», 350012 Россия, Краснодар, Центральная Усадьба КНИИСХ, boldasar@mail.ru, https://orcid.org/0009-0005-5656-7174
Екатерина Дмитриевна Бадаева, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория генетических основ идентификации растений, отдел генетики растений, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН», 119991 Россия, ГСП-1, Москва, ул. Губкина, 3, katerinabadaeva@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-7101-9639
Ирина Григорьевна Адонина, кандидат биологических наук, научный сотрудник, лаборатория молекулярной генетики и цитогенетики растений, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН» (ИЦиГ СО РАН), 630090 Россия, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10, adonina@bionet.nsc.ru, https://orcid.org/0000-0002-8460-6119
Елена Артемовна Салина, доктор биологических наук, отдел молекулярной генетики растений, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН), 630090 Россия, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10, salina@bionet.nsc.ru, https://orcid.org/0000-0001-8590-847X
Александра Николаевна Зинченко, научный сотрудник, отдел биотехнологии, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко», 350012 Россия, Краснодар, Центральная Усадьба КНИИСХ, zinchenk0an@yandex.ru, https://orcid.org/0009-0001-4899-5671
Юлия Сергеевна Зубанова, старший научный сотрудник, отдел биотехнологии, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко», 350012 Россия, Краснодар, Центральная Усадьба КНИИСХ, iula-86_86@mail.ru, https://orcid.org/0009-0001-7615-006X

Information about the authors

Edvard R. Davoyan, Dr. Sci. (Biology), Head, Department of Biotechnology, Federal State Budget Scientific Organization «National Center of Grain named after P.P. Lukyanenko», Central Estate of KNIISH, Krasnodar, 350012 Russia, davoyan.edvard@bk.ru, https://orcid.org/0009-0007-2786-617X
Irina V. Bebyakina, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Department of Biotechnology, Federal State Budget Scientific Organization «National Center of Grain named after P.P. Lukyanenko», Central Estate of KNIISH, Krasnodar, 350012 Russia, irina.bebyakina@yandex.ru, https://orcid.org/0009-0001-9389-6234
Rumik O. Davoyan, Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher, Department of Biotechnology, Federal State Budget Scientific Organization «National Center of Grain named after P.P. Lukyanenko», Central Estate of KNIISH, Krasnodar, 350012 Russia, davoyanro@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-9495-2026
Dmitry M. Boldakov, Researcher, Department of Biotechnology, Federal State Budget Scientific Organization «National Center of Grain named after P.P. Lukyanenko», Central Estate of KNIISH, Krasnodar, 350012 Russia, boldasar@mail.ru ru, https://orcid.org/0009-0005-5656-7174
Ekaterina D. Badaeva, Dr. Sci. (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Genetic Basis of Plant Identification, Department of Plant Genetics, Institute of General Genetics of the Russian Academy of Sciences, 3, Gubkina Street, Moscow, GSP-1, Russia 119991, katerinabadaeva@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-7101-9639
Irina G. Adonina, Cand. Sci. (Biology), Researcher, Laboratory of Plant Molecular Genetics and Cytogenetics, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 10, Academician Lavrentjev Avenue, Novosibirsk, 630090 Russia, adonina@bionet.nsc.ru, https://orcid.org/0000-0002-8460-6119
Elena A. Salina, Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher, Department of Molecular Genetics of Plants, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 10, Academician Lavrentjev Avenue, Novosibirsk, 630090 Russia, salina@bionet.nsc.ru, https://orcid.org/0000-0001-8590-847X
Alexandra N. Zinchenko, Researcher, Department of Biotechnology, Federal State Budget Scientific Organization «National Center of Grain named after P.P. Lukyanenko», Central Estate of KNIISH, Krasnodar, 350012 Russia, zinchenk0an@yandex.ru, https://orcid.org/0009-0001-4899-5671
Julia S. Zubanova, Senior Researcher, Department of Biotechnology, Federal State Budget Scientific Organization «National Center of Grain named after P.P. Lukyanenko», Central Estate of KNIISH, Krasnodar, 350012 Russia, iula-86_86@mail.ru, https://orcid.org/0009-0001-7615-006X

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 01.09.2023; одобрена после рецензирования 12.09.2023; принята к публикации 25.09.2023.
The article was submitted on 01.09.2023; approved after reviewing on 12.09.2023; accepted for publication on 25.09.2023.

Научная статья
УДК 634.75:577.2:632.4
DOI: 10.30901/2658-6266-2023-3-o3

(cc) BY

Идентификация аллелей резистентности генов *Rca2* и *Rpf1* у селекционных форм земляники садовой межсортового гибридного происхождения

А. С. Лыжин, И. В. Лукъянчук

Федеральный научный центр имени И. В. Мичурина, Мичуринск, Россия

Автор, ответственный за переписку: Александр Сергеевич Лыжин, Ranenburzhetc@yandex.ru

Актуальность. Создание сортов с генетической устойчивостью к грибным патогенам – одно из важнейших направлений селекционной работы по землянике. Перспективным направлением ускоренного отбора ценных образцов является молекулярный скрининг на наличие в генотипе диагностических ДНК-маркеров, сцепленных с целевыми аллелями селектируемых генов. **Цель работы:** определение аллельного состояния генов *Rca2* (устойчивость к антракнозу) и *Rpf1* (устойчивость к фитофторозу) у селекционных форм земляники садовой для выявления генотипов, устойчивых к *Colletotrichum acutatum* Simmonds и *Phytophthora fragariae* var. *fragariae* Hickman. **Материал и методы.** Объектом исследований являлись селекционные формы земляники межсортового гибридного происхождения. В результате 22-х комбинаций скрещивания получены селекционные формы в количестве 61, у которых был изучен аллельный состав генов устойчивости. Для идентификации аллеля устойчивости к антракнозу *Rca2* использовали маркер STS-Rca2_240. Аллель *Rpf1* устойчивости к фитофторозной корневой гнили был идентифицирован с помощью маркера SCAR-R1A. **Результаты.** Хотя бы один из двух генов выявлен у 20 селекционных форм (32,8%). Маркер STS-Rca2_240 выявлен у 15 сеянцев из шести гибридных комбинаций (‘Vicoda’ × ‘Roxana’, ‘Florence’ × ‘Faith’, ‘Asia’ × ‘Aprica’, ‘San Andreas’ × ‘Monterey’, ‘Алиса’ × ‘Quicky’, ‘Quicky’ × ‘Olympia’), что составляет 22,9%. Маркер SCAR-R1A выявлен у пяти селекционных форм из четырёх комбинаций скрещивания (‘Привлекательная’ × ‘Былинная’, ‘Фейерверк’ × ‘Былинная’, ‘Былинная’ × ‘Фейерверк’, ‘Былинная’ × ‘Олимпийская надежда’), что составляет 8,2%. Установлено, что все формы с идентифицированными маркерными фрагментами для генов резистентности характеризуются гетерозиготным сочетанием аллелей. **Заключение.** Перспективными источниками доминантных аллелей резистентности *Rca2* являются селекционные формы: 2/1-24, 2/1-34 (‘Quicky’ × ‘Olympia’), 3/9-5 (‘Florence’ × ‘Faith’), 3/12-2, 3/12-9 (‘Алиса’ × ‘Quicky’), 4/7-10, 4/7-19, 4/7-20 (‘Asia’ × ‘Aprica’), 5/2-26, 5/2-32 (‘San Andreas’ × ‘Monterey’), 9/1-11, 9/1-12, 9/1-13, 9/1-32, 9/1-37 (‘Vicoda’ × ‘Roxana’), в случае *Rpf1* – селекционные формы 72-24, 72-71 (‘Привлекательная’ × ‘Былинная’), 69-29 (‘Фейерверк’ × ‘Былинная’), 62-41 (‘Былинная’ × ‘Фейерверк’), 61-15 (‘Былинная’ × ‘Олимпийская надежда’).

***Ключевые слова*:** *Fragaria* × *ananassa*, гибридные сеянцы, антракнозная чёрная гниль, фитофторозная корневая гниль, ДНК-маркеры

Благодарности: Работа выполнена в рамках Государственного задания «ФНЦ имени И.В. Мичурина» по проекту FGSU-2022-0002 «Разработать модели идеального сорта по основным промышленным садовым культурам, усовершенствовать методы направленной и маркер-опосредованной селекции и на их основе создать новые генотипы с повышенной устойчивостью к комплексу биотических и абиотических стрессоров, с высокой продуктивностью и улучшенным качеством плодов, конкурентоспособных на российском и мировом рынках».

Для цитирования: Лыжин А.С., Лукъянчук И.В. Идентификация аллелей резистентности генов *Rca2* и *Rpf1* у селекционных форм земляники садовой межсортового гибридного происхождения. *Биотехнология и селекция растений.* 2023;6(3):35-43. DOI: 10.30901/2658-6266-2023-3-o3

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 местам работы.

© Лыжин А.С., Лукъянчук И.В., 2023

Original article
DOI: 10.30901/2658-6266-2023-3-o3

Identification of *Rca2* and *Rpf1* resistance alleles in strawberry breeding forms of intervarietal hybrid origin

Alexander S. Lyzhin, Irina V. Luk'yanchuk

I.V. Michurin Federal Scientific Center, Michurinsk, Russia

Corresponding author: Alexander S. Lyzhin, Ranenburzhetc@yandex.ru

Background. The creation of varieties with genetic resistance to fungal pathogens is one of the most important directions in strawberry breeding. A promising direction of accelerated selection of valuable specimens is the molecular screening of genotypes for the presence of diagnostic DNA markers linked to target genes of agro-biological traits. **The objectives** of the work were to determine the allelic status of the *Rca2* (resistance to anthracnose) and *Rpf1* (resistance to red stele root rot) genes in strawberry breeding forms for identifying genotypes resistant to *Colletotrichum acutatum* Simmonds and *Phytophthora fragariae* var. *fragariae* Hickman. **Material and methods.** The object of research was strawberry breeding forms of intervarietal hybrid origin. As a result of 22 crossing combinations, 61 breeding forms were obtained, in which the allelic composition of resistance genes was studied. The *Rca2* anthracnose resistance allele was identified by means of the STS-Rca2_240 marker. The *Rpf1* red stele root rot resistance allele was identified with the help of the SCAR-R1A marker. **Results.** At least one of the two genes was identified in 20 selected strawberry forms (32.8%). The STS-Rca2_240 marker was identified in 15 strawberry seedlings (22.9%) from six hybrid combinations 'Vicoda' × 'Roxana', 'Florence' × 'Faith', 'Asia' × 'Aprica', 'San Andreas' × 'Monterey', 'Alisa' × 'Quicky', 'Quicky' × 'Olympia'). The SCAR-R1A marker was identified in five strawberry seedlings (8.2%) from four hybrid combinations ('Privlekatelnaya' × 'Bylinnaya', 'Feyerverk' × 'Bylinnaya', 'Bylinnaya' × 'Feyerverk', 'Bylinnaya' × 'Olimpiyskaya nadezhda'). It has been established that all strawberry selected forms with identified marker fragments for resistance genes are characterized by a heterozygous combination of alleles. **Conclusions.** Promising sources of resistance alleles are strawberry breeding forms 2/1-24, 2/1-34 ('Quicky' × 'Olympia'), 3/9-5 ('Florence' × 'Faith'), 3/12-2, 3/12- 9 ('Alisa' × 'Quicky'), 4/7-10, 4/7-19, 4/7-20 ('Asia' × 'Aprica'), 5/2-26, 5/2-32 ('San Andreas' × 'Monterey'), 9/ 1-11, 9/1-12, 9/1-13, 9/1-32, 9/1-37 'Vicoda' × 'Roxana') in the case of *Rca2* gene, and 72-24, 72-71 (Privlekatelnaya × Bylinnaya), 69-29 ('Feyerverk' × 'Bylinnaya'), 62-41 ('Bylinnaya' × 'Feyerverk'), 61-15 ('Bylinnaya' × 'Olimpiyskaya nadezhda') in the case of *Rpf1* gene.

Keywords: *Fragaria* × *ananassa*, hybrid seedlings, anthracnose, red stele root rot, DNA markers

Acknowledgments: The work was carried out within the framework of the State Assignment to the I.V. Michurin FSC under the project FGSU-2022-0002 "To develop models of an ideal cultivar for the main commercial horticultural crops, improve methods of targeted and marker-assisted selection, and produce on their basis new genotypes with increased resistance to a set of biotic and abiotic stressors, with high productivity and improved fruit quality, competitive in the Russian and world markets"

For citation: Lyzhin A.S., Luk'yanchuk I.V. Identification of *Rca2* and *Rpf1* resistance alleles in strawberry breeding forms of intervarietal hybrid origin. *Plant Biotechnology and Breeding.* 2023;6(3):35-43. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2023-3-o3

Financial transparency. The authors have no financial interest in the presented materials or methods. The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employers.

© Lyzhin A.S., Luk'yanchuk I.V., 2023

Введение

Земляника (*Fragaria* L.) – наиболее популярная и экономически выгодная ягодная культура. Род *Fragaria* насчитывает около 25 видов различного уровня плоидности (2x, 4x, 5x, 6x, 8x, 10x) с базовым числом хромосом x=7 (Staudt, 2009). Культивируемые сорта и формы земляники относятся к синтетическому октоплоидному виду *F.* × *ananassa* Duch. (8x=56), который возник в результате спонтанной гибридизации *F. virginiana* Duch. и *F. chiloensis* (L.) Duch. (Hancock et al., 2003).

В настоящее время в условиях интенсификации отрасли садоводства, имеющей приоритетной целью увеличение объемов производства плодово-ягодной продукции высокого качества и относительную оптимизацию ресурсных затрат, важнейшее значение имеет сорт. В мире насчитывается более 3000 сортов земляники, в России – более 300 (Stolbanova, 2006). По состоянию на 2023 год, в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию на территории Российской Федерации внесено 130 сортов земляники садовой (State Register, 2023). При этом, несмотря на преобладание в Госреестре сортов отечественной селекции, промышленные насаждения в основном представлены интенсивными сортами иностранного происхождения – ‘Polka’, ‘Elsanta’, ‘Kimberly’, ‘Florence’, ‘Marmolada’ и другие (Marchenko, 2020). Кроме того, в условиях усиливающейся дестабилизации климата, участившихся эпифитотий болезней различной этиологии, а также возросших требований к качеству продукции, не все существующие сорта в полной мере отвечают современным требованиям, что обуславливает необходимость проведения интенсивной селекционной работы с целью создания новых отечественных высококонкурентоспособных сортов земляники.

Успешное решение задачи совершенствования сортимента земляники неразрывно связано с углублением генетических исследований, привлечением и созданием качественно нового исходного материала, совершенствованием методов подбора родительских пар. Важным этапом селекционного процесса является подбор исходных родительских форм для гибридизации. Такие формы должны не только характеризоваться комплексом селекционно-значимых признаков, но и способностью передавать их потомству, что позволяет повысить эффективность конструирования ценных генотипов.

Одним из перспективных направлений повышения эффективности селекционного процесса является сочетание методов классической селекции с ДНК-маркерным анализом исходных форм и гибридных растений. Преимущество технологии ДНК-маркирования заключается в оценке наличия селекционно-значимых признаков не по их фенотипическому проявлению, формирующемуся под воздействием условий окружающей среды, а непосредственно по наличию в геноме целевых аллелей (Whitaker, 2011; Porter et al., 2023).

К числу агробиологических признаков, по которым рекомендуется вести селекцию земляники садовой с помощью молекулярных маркеров, относятся устойчивость к антракнозной чёрной гнили (возбудитель *Colletotrichum acutatum* Simmonds) и фитофторозной корневой гнили, вызываемой *Phytophthora fragariae* var. *fragariae* Hickman (Bassil et al., 2017; Sturzeanu et al., 2021). Указанные фитопатогены на территории Российской Федерации относятся к перечню карантинных организмов (Aleksandrov et al., 2007; Kuznetsova et al., 2018), в связи с чем оценка устойчивости растений на естественном инфекционном фоне невозможна, а сложность борьбы с ними в производственных насаждениях обуславливает необходимость создания и возделывания сортов с генетически детерминированной устойчивостью (Parikka, 2004; Whitaker et al., 2017).

Целью настоящего исследования являлось определение аллельного состояния генов *Rca2* (устойчивость к антракнозу) и *Rpf1* (устойчивость к фитофторозу) у селекционных форм земляники садовой для выявления генотипов, устойчивых к *C. acutatum* и *P. fragariae* var. *fragariae*.

Материал и методы

Объектом исследований являлась 61 селекционная форма земляники садовой межсортового происхождения из 22-х комбинаций скрещивания. Селекционные формы созданы в Федеральном научном центре имени И.В. Мичурина.

Геномную ДНК выделяли из молодых листьев, экстракцию проводили CTAB-методом, модифицированным для культуры земляники (Luk’yanchuk et al., 2018).

Для идентификации гена *Rca2* использовали маркер STS-Rca2_240 (целевой продукт – ампликон размером 240 пн, сцепленный с аллелем резистентности), для контроля протекания ПЦР и исключения ложноотрицательных результатов – маркер EMFv020. Соответствующие этим маркерам фрагменты амплифицировали с использованием мультиплексной ПЦР (Lerceteau-Kohler et al., 2005). В качестве положительного контроля использовали устойчивый к антракнозу сорт ‘Elianny’, имеющий в генотипе доминантный аллель *Rca2* (Lyzhin et al., 2019). Ген *Rpf1* выявляли с помощью маркера SCAR-R1A. Аллелю резистентности соответствует ампликон размером 285 пн (Haymes et al., 2000). Положительным контролем являлся сорт ‘Былинная’, характеризующийся наличием доминантного аллеля резистентности *Rpf1* в гетерозиготном состоянии (Lyzhin, Luk’yanchuk, 2020).

Полимеразную цепную реакцию проводили в термоциклере T100 (Bio-Rad, США) с использованием описанных ранее реактивов и программ амплификации (Lyzhin, Luk’yanchuk, 2020; 2022a).

Разделение продуктов амплификации осуществляли методом электрофореза в 2% агарозном геле с использованием трис-боратного буфера (ТБЕ). Размер продук-

тов амплификации определяли с помощью ДНК-маркера Step100 (Биолабмикс, Россия). Визуализацию результатов амплификации проводили с использованием системы гель-документации ChemiDoc XRS+ (Bio-Rad, США).

Результаты

В результате проведённого молекулярно-генетического анализа маркер STS-Rca2_240, сцепленный с геном *Rca2*, доминантный аллель которого обуславливает устойчивость к антракнозной чёрной гнили, выявлен у 15 сеянцев из шести гибридных комбинаций: 'Vicoda' × 'Roxana', 'Florence' × 'Faith', 'Asia' × 'Aprica', 'San Andreas' × 'Monterey', 'Алиса' × 'Quicky', 'Quicky' × 'Olympia', что составляет 22,9%. При этом пять из 15 селекционных форм (33,3%) выделены в комбинации 'Vicoda' × 'Roxana', а три формы (20,0%) – в комбинации 'Asia' × 'Aprica'. Результаты представлены в таблице. Пример идентификации приведён на рисунке 1.

Таблица. Аллельный полиморфизм локусов устойчивости к антракнозной чёрной гнили и фитофторозной корневой гнили у селекционных форм земляники

Table. Allelic polymorphism in loci for resistance to anthracnose and red stele root rot in strawberry breeding forms

№	Селекционная форма/ Breeding form	Комбинация скрещивания/ Crossing combination	Ген *Rca2*/ *Rca2* gene	Ген *Rpf1*/ *Rpf1* gene
			Маркер STS-Rca2_240/ STS-Rca2_240 marker	Маркер SCAR-R1A/ SCAR-R1A marker
1	911-16	'Фейерверк' × 'Фестивальная Ромашка'	0	0
2	72-24	'Привлекательная' × 'Былинная'	0	1
3	72-71		0	1
4	69-29	'Фейерверк' × 'Былинная'	0	1
5	62-41	'Былинная' × 'Фейерверк'	0	1
6	61-15	'Былинная' × 'Олимпийская надежда'	0	1
7	56-5	'Gigantella Maxim' × 'Привлекательная'	0	0
8	56-17		0	0
9	56-19		0	0
10	21-14	'Урожайная ЦГЛ' × 'Рубиновый кулон'	0	0
11	1/6-41	'Vima Zanta' × 'Polka'	0	0
12	2/1-12	'Quicky' × 'Olympia'	0	0
13	2/1-24		1	0
14	2/1-25		0	0
15	2/1-32		0	0
16	2/1-34		1	0
17	2/2-8-16	'Привлекательная' × 'Polka'	0	0
18	2/2-32	'Faith' × 'Tea'	0	0
19	2/2-41		0	0
20	2/3-12	'Scala' × 'Tea'	0	0
21	3/2-3	'Vima Zanta' × 'Привлекательная'	0	0
22	3/2-62		0	0
23	3/4-6	'Malwina' × 'Tea'	0	0
24	3/4-7		0	0
25	3/9-5	'Florence' × 'Faith'	1	0
26	3/9-12		0	0
27	3/12-2	'Алиса' × 'Quicky'	1	0
28	3/12-9		1	0
29	4/7-8	'Asia' × 'Aprica'	0	0
30	4/7-10		1	0
31	4/7-16		0	0
32	4/7-17		0	0
33	4/7-19		1	0
34	4/7-20		1	0

№	Селекционная форма/ Breeding form	Комбинация скрещивания/ Crossing combination	Ген *Rca2*/ *Rca2* gene	Ген *Rpf1*/ *Rpf1* gene
			Маркер STS-Rca2_240/ STS-Rca2_240 marker	Маркер SCAR-R1A/ SCAR-R1A marker
35	5/1-105	'Polka' × 'Vima Zanta'	0	0
36	5/2-23	'San Andreas' × 'Monterey'	0	0
37	5/2-26		1	0
38	5/2-32	'San Andreas' × 'Monterey'	1	0
39	7/2-16	'Asia' × 'Maya'	0	0
40	7/2-17	'Asia' × 'Maya'	0	0
41	7/2-48		0	0
42	7/2-78		0	0
43	7/2-79		0	0
44	7/2-93		0	0
45	8/2-41	'Vicoda' × 'Roxana'	0	0
46	8/2-48		0	0
47	8/2-49		0	0
48	8/2-55		0	0
49	8/2-69		0	0
50	8/2-102		0	0
51	8/2-109		0	0
52	8/2-112		0	0
53	9/1-11		1	0
54	9/1-12		1	0
55	9/1-13		1	0
56	9/1-32		1	0
57	9/1-37		1	0
58	9/2-2	'Kimberly' × 'Honeoye'	0	0
59	9/2-7		0	0
60	9/2-10		0	0
61	9/2-41		0	0

Примечание: 1 – целевой аллель присутствует, 0 – целевой аллель отсутствует

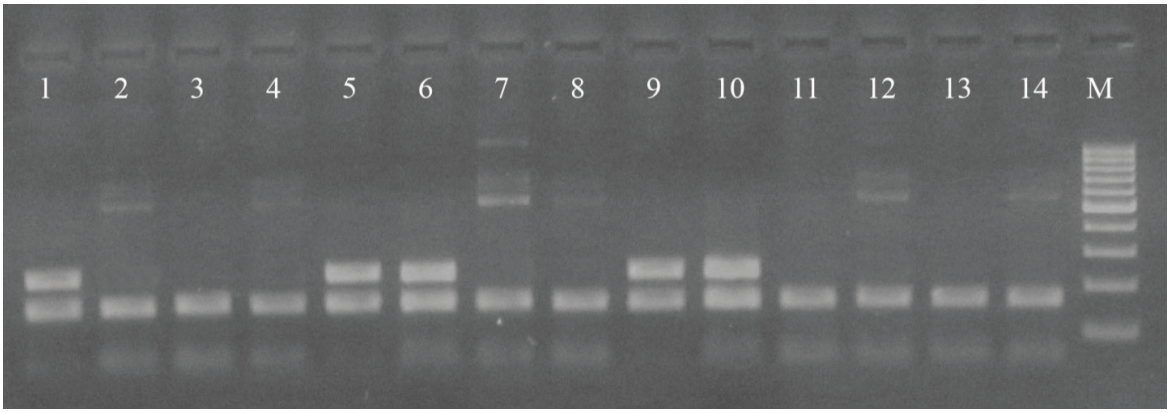


Рис. 1. Электрофоретический профиль фрагментов ДНК маркера гена *Rca2* у селекционных форм земляники

1) 'Elianny' (контроль); 2) 7/2-16; 3) 56-19; 4) 6/3-6; 5) 9/1-11; 6) 9/1-13; 7) 9/2-7; 8) 1/6-41; 9) 9/1-12; 10) 9/1-37; 11) 8/2-109; 12) 8/2-112; 13) 8/2-102; 14) 2/2-8. M – маркер молекулярного веса фрагментов ДНК

Fig. 1. Electrophoretic profile of the *Rca2* gene marker fragments in strawberry breeding forms

1) 'Elianny' (control); 2) 7/2-16; 3) 56-19; 4) 6/3-6; 5) 9/1-11; 6) 9/1-13; 7) 9/2-7; 8) 1/6-41; 9) 9/1-12; 10) 9/1-37; 11) 8/2-109; 12) 8/2-112; 13) 8/2-102; 14) 2/2-8; M – DNA molecular weight marker

Маркер SCAR-R1A, сцепленный с *Rpf1*, геном устойчивости к фитофторозному увяданию, выявлен у пяти селекционных форм из четырёх комбинаций скрещивания ('Привлекательная' × 'Былинная', 'Фейерверк' × 'Былинная', 'Былинная' × 'Фейерверк', 'Былинная' × 'Олимпийская надежда'), что составляет 8,2%. Пример полученных электрофоретических спектров маркера SCAR-R1A представлен на рисунке 2, результаты идентификации – в таблице.

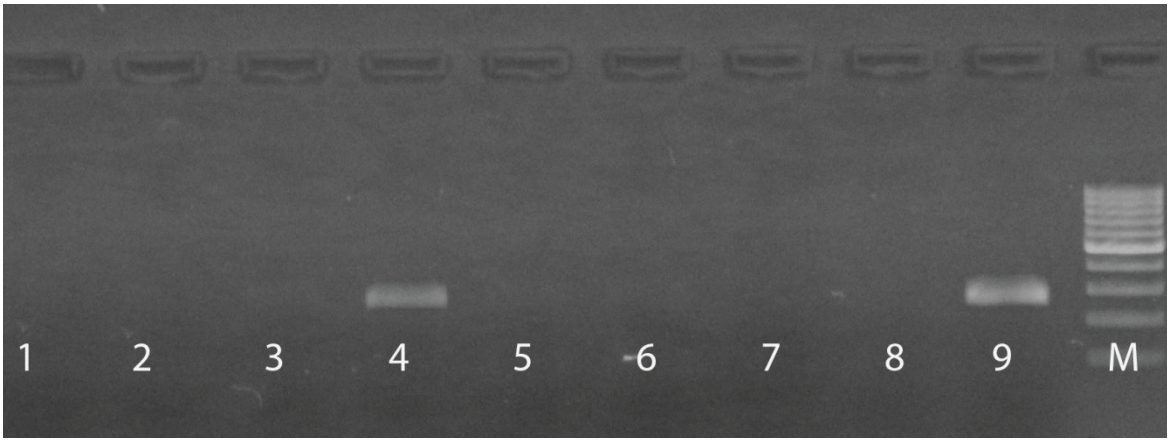


Рис. 2. Электрофоретический профиль фрагментов ДНК маркера гена *Rpf1* у селекционных форм земляники

1) 298-19-9-43; 2) 928-12; 3) 933-4; 4) 62-41; 5) 56-5; 6) 35-16; 7) 932-29; 8) 26-5; 9) 69-29. М – маркер молекулярного веса фрагментов ДНК

Fig. 2. Electrophoretic profile of the *Rca2* gene marker fragments in strawberry breeding forms

1) 298-19-9-43; 2) 928-12; 3) 933-4; 4) 62-41; 5) 56-5; 6) 35-16; 7) 932-29; 8) 26-5; 9) 69-29. M – DNA molecular weight marker

Хотя бы один из двух генов выявлен у 20 селекционных форм, что составляет 32,8% от общего количества проанализированных генотипов. Остальные изученные формы характеризовались гомозиготным состоянием аллелей *rca2* и *rpf1* и, следовательно, восприимчивостью к *C. acutatum* и *P. fragariae* var. *fragariae*.

Обсуждение

Устойчивость земляники к возбудителям различных заболеваний в большинстве случаев контролируется полигенно. Однако, для некоторых патогенов также выявлены моногенные факторы устойчивости. К их числу относятся локусы *FaRCa1* (Salinas et al., 2020) и *Rca2* (Lerceteau-Kohler et al., 2002), контролирующие устойчивость земляники к антракнозу, а также гены семейства *Rpf* (*Rpf1*, *Rpf2*, *Rpf3*) (Van de Weg, 1997a; Van de Weg, 1997b), контролирующие устойчивость к фитофторозу. Наличие моногенно детерминированной устойчивости к антракнозу и фитофторозу позволяет направлено подбирать исходные формы для гибридизации и прогнозировать наследование целевых аллелей в гибридном потомстве.

Проведённый ранее (Lyzhin, Luk'yanchuk, 2022a; b) анализ исходных родительских форм земляники на наличие диагностического маркера STS-Rca2_240 показал, что сорт 'Roxana' характеризуется гетерозиготным сочетанием аллелей гена *Rca2*, у сортов 'Aprica' и 'Monterey' аллель резистентности *Rca2* находится в гомозиготном или гетерозиготном состоянии, сорта 'Faith', 'Asia', 'Quicky', 'Vicoda' имеют гомозиготный генотип по аллелю *rca2*. Присутствие диагностического маркера STS-Rca2_240 у сорта 'Roxana' подтверждается также работами других авторов (Miller-Butler et al., 2019; Khrabrov et al., 2021). Для сортов 'Алиса', 'Florence', 'San Andreas' и 'Olympia' данные об аллельном состоянии гена *Rca2* отсутствуют.

В связи с вышеизложенным, источником аллеля резистентности *Rca2* для гибридных сеянцев в комбинации скрещивания 'Vicoda' × 'Roxana' является сорт 'Roxana', в комбинации 'Florence' × 'Faith' – сорт 'Florence', в комбинации 'Asia' × 'Aprica' – сорт 'Aprica', в комбинации 'San Andreas' × 'Monterey' – сорт 'Monterey', в комбинации 'Алиса' × 'Quicky' – сорт 'Алиса', в комбинации скрещивания 'Quicky' × 'Olympia' – сорт 'Olympia'.

Таким образом, данные комбинации имеют вид *Rca2–* × *rca2rca2* и, следовательно, селекционные формы: 2/1-24; 2/1-34 ('Quicky' × 'Olympia'); 3/9-5 ('Florence' × 'Faith'); 3/12-2; 3/12-9 ('Алиса' × 'Quicky'); 4/7-10; 4/7-19; 4/7-20 ('Asia' × 'Aprica'); 5/2-26; 5/2-32 ('San Andreas' × 'Monterey'); 9/1-11; 9/1-12; 9/1-13; 9/1-32; 9/1-37 ('Vicoda' × 'Roxana') с идентифицированным маркером STS-Rca2_240 характеризуются гетерозиготным сочетанием аллелей гена *Rca2*.

Необходимо отметить, что в гибридных комбинациях 'Quicky' × 'Olympia', 'Florence' × 'Faith', 'Asia' × 'Aprica', 'San Andreas' × 'Monterey' и 'Vicoda' × 'Roxana' также были отобраны формы, у которых маркер STS-Rca2_240 отсутствует: 2/1-12; 2/1-25; 2/1-32; 3/9-12; 4/7-8; 4/7-16; 4/7-17; 5/2-23; 8/2-41; 8/2-48; 8/2-49; 8/2-55; 8/2-69; 8/2-102; 8/2-109; 8/2-112. Кроме того, селекционные формы 3/4-6; 3/4-7 ('Malwina' × 'Tea') и 21-14 ('Урожайная ЦГЛ' × 'Рубиновый кулон'), полученные с участием источников гена *Rca2*, таких как сорта 'Malwina' и 'Рубиновый кулон'

(Lyzhin, Luk'yanchuk, 2022b), аллель резистентности не унаследовали и являются гомозиготами по аллелю *rca2*.

Отобранные гибриды: 911-16 ('Фейерверк' × 'Фестивальная Ромашка'); 72-24; 72-71 ('Привлекательная' × 'Былинная'); 69-29 ('Фейерверк' × 'Былинная'); 62-41 ('Былинная' × 'Фейерверк'); 61-15 ('Былинная' × 'Олимпийская надежда'); 56-5; 56-17; 56-19 ('Gigantella Maxim' × 'Привлекательная'); 1/6-41 ('Vima Zanta' × 'Polka'); 2/2-8-16 ('Привлекательная' × 'Polka'); 2/2-32; 2/2-41 ('Faith' × 'Tea'); 2/3-12 ('Scala' × 'Tea'), 3/2-3, 3/2-62 ('Vima Zanta' × 'Привлекательная'); 5/1-105 ('Polka' × 'Vima Zanta'); 7/2-16; 7/2-17; 7/2-48; 7/2-78; 7/2-79; 7/2-93 ('Asia' × 'Maya'); 9/2-2; 9/2-7; 9/2-10; 9/2-41 ('Kimberly' × 'Honeoye') – содержат аллель *rca2* в гомозиготном состоянии. Полученные данные подтверждаются анализом исходных родительских форм – сортов 'Былинная', 'Олимпийская надежда', 'Привлекательная', 'Фейерверк', 'Фестивальная Ромашка', 'Asia', 'Faith', 'Gigantella Maxim', 'Honeoye', 'Kimberly', 'Polka', 'Vima Zanta', у которых маркер STS-Rca2_240 не выявлен (Lyzhin et al, 2019; Khrabrov et al., 2021; Lyzhin, Luk'yanchuk, 2022a; b). Сорта 'Tea', 'Scala' и 'Maya' на наличие диагностического маркера STS-Rca2_240 не были проверены.

ДНК-маркеры, сцепленные с геном *Rca2*, активно применяются как для анализа генетических коллекций сортов земляники, так и гибридных сеянцев для идентификации устойчивых к *C. acutatum* форм. С использованием маркера STS-Rca2_240 доминантный аллель гена *Rca2* выявлен у сортов 'Capitola', 'Chandler', 'Dover', 'Oso Grande', 'Seascape', 'Selva' (Lerceteau-Kohler et al., 2005), 'Benton' (Sturzeanu et al., 2016). Кроме того, в комбинации скрещивания 'Benton' × 'Cambridge Favourite' было отобрано 17 форм (Sturzeanu et al., 2021), а Кельдибековой с соавторами (Keldibekova et al., 2024) в гибридных комбинациях 'Alba' × 'Росинка' и 'Росинка' × 'Darselect' 136 гибридов, характеризующихся наличием аллеля резистентности *Rca2*.

Все сеянцы с идентифицированным геном *Rpf1* выделены в комбинациях скрещивания с участием сорта 'Былинная' ('Былинная' × 'Фейерверк', 'Фейерверк' × 'Былинная', 'Привлекательная' × 'Былинная' и 'Былинная' × 'Олимпийская надежда'), который согласно данным молекулярно-генетического анализа (Lyzhin, Luk'yanchuk, 2020) имеет гетерозиготный генотип. Сорта 'Фейерверк', 'Привлекательная' и 'Олимпийская надежда' имеют генотип, гомозиготный по аллелю *rpf1*. Поэтому отобранные формы 62-41 ('Былинная' × 'Фейерверк'), 69-29 ('Фейерверк' × 'Былинная'), 72-24; 72-71 ('Привлекательная' × 'Былинная') и 61-15 ('Былинная' × 'Олимпийская надежда') характеризуются гетерозиготным сочетанием аллелей *Rpf1 rpf1*. Остальные проанализированные формы имеют генотип, гомозиготный по аллелю *rpf1*. Для сеянцев: 56-5; 56-17; 56-19 ('Gigantella Maxim' × 'Привлекательная'), 1/6-41 ('Vima Zanta' × 'Polka'), 2/2-8-16 ('Привлекательная' × 'Polka'), 3/2-3; 3/2-62 ('Vima Zanta' × 'Привлекательная') и 5/1-105 ('Polka' × 'Vima Zanta') – полученные результаты подтверждаются анализом исходных форм (Lyzhin, Luk'yanchuk, 2020; 2021).

Другими исследователями также идентифицированы генотипы земляники с аллелем резистентности *Rpf1*: сорта 'Allstar', 'Annapolis', 'Cornwallis', 'Darrow', 'Guardian', 'Hood', 'Redchief', 'Tristar' (Haymes et al., 2000), 'Benton', 'Idea', 'Mira' (Sturzeanu et al., 2016), селекционные формы CPRO 77191 ('Guardian' × 'Sivetta'), CPRO 88218 ('Bogota' × 'Scot'), CPRO 88239 ('Bogota' × 'Yalova-4'), CPRO 90025 ('Allstar' × 'Korona') (Haymes et al., 2000), 11(12); 11(47); 11(48); 11(57) ('Ранняя плотная' × 'Говоровская') (Keldibekova et al., 2024).

Сеянцев, совмещающих в генотипе два гена резистентности, в анализируемой выборке нами идентифицировано не было. Это объясняется тем, что в изучаемых комбинациях скрещивания целевые аллели находятся в разных группах сцепления. Однако препятствий для комбинирования в одном генотипе аллелей генов *Rpf1* и *Rca2* нет. Для получения гибридов земляники с комплексной устойчивостью к *C. acutatum* и *P. fragariae* var. *fragariae* нами планируется проведение гибридизации между селекционными формами, имеющими доминантные аллели разных локусов устойчивости.

Заключение

Согласно результатам молекулярно-генетического анализа устойчивостью к антракнозной чёрной гнили, детерминируемой геном *Rca2,* характеризуются селекционные формы 2/1-24; 2/1-34 ('Quicky' × 'Olympia'); 3/9-5 ('Florence' × 'Faith'); 3/12-2; 3/12-9 ('Алиса' × 'Quicky'); 4/7-10; 4/7-19; 4/7-20 ('Asia' × 'Aprica'); 5/2-26; 5/2-32 ('San Andreas' × 'Monterey'); 9/1-11; 9/1-12; 9/1-13; 9/1-32; 9/1-37 ('Vicoda' × 'Roxana'); устойчивостью к фитофторозной корневой гнили (ген *Rpf1*) – селекционные формы 72-24; 72-71 ('Привлекательная' × 'Былинная'); 69-29 ('Фейерверк' × 'Былинная'); 62-41 ('Былинная' × 'Фейерверк'); 61-15 ('Былинная' × 'Олимпийская надежда'). Указанные гибриды являются перспективными источниками аллелей резистентности для использования в селекции по созданию сортов земляники с комплексной устойчивостью к патогенам.

References/Литература

Aleksandrov I.N., Skripka O.V., Dudchenko I.P., Surina T.A., Nikiforov S.V. Red stele root rot in strawberry. *Plant Protection and Quarantine*. 2007;5:32-34. [in Russian] (Александров И.Н., Скрипка О.В., Дудченко И.П., Сурина Т.А., Никифоров С.В. Фитофтороз земляники. *Защита и карантин растений*. 2007;5:32-34).

Bassil N.V., Hummer K.E., Finn C.E. Lessons learned from DNA-based tool development and use in a genebank. *Acta Horticulturae*. 2017;1156:25-36. DOI: 10.17660/ActaHortic.2017.1156.4

Hancock J.F., Callow P.W., Serce S. Variation in the horticultural characteristics of native *Fragaria virginiana* and *F. chiloensis* from North and South America. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 2003;128(2):201-208. DOI: 10.21273/

JASHS.128.2.0201
Haymes K.M., Van de Weg W.E., Arens P., Maas J.L., Vosman B., Den Nijs A.P.M. Development of SCAR markers linked to a *Phytophthora fragariae* resistance gene and their assessment in European and North American strawberry genotypes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 2000;125(3):330-339. DOI: 10.21273/JASHS.125.3.330
Keldibekova M., Bezlepkina E., Zubkova M., Dolzhikova M. DNA-screening of strawberry cultivars and hybrids (*Fragaria ananassa* Duch.) for resistance to fungal diseases. *Pakistan Journal of Botany*. 2024;56(2):29. DOI: 10.30848/PJB2024-2(29)
Khrabrov I.E., Antonova O.Yu., Shapovalov M.I., Semenova L.G. Molecular screening of the VIR strawberry varieties collection for the presence of a marker for the anthracnose black rot resistance gene *Rca2*. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(4):15-24. [in Russian] (Храбров И.Э., Антонова О.Ю., Шаповалов М.И., Семенова Л.Г. Молекулярный скрининг сортовой коллекции земляники ВИР на наличие маркера гена устойчивости к антракнозной черной гнили *Rca2*. *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(4):15-24). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-4-o3
Kuznetsova A.A., Dudchenko I.P., Kopina M.B. Strawberry anthracnose, classical and modern diagnostic methods. In: *Modern approaches and methods in plant protection; 2018 November 12-14; Ekaterinburg, Russia;* Ekaterinburg: Ural Federal University; 2018. p.78-81. [in Russian] (Кузнецова А.А., Дудченко И.П., Копина М.Б. Антракноз земляники, классические и современные методы диагностики. В кн.: *Современные подходы и методы в защите растений; 12-14 ноября 2018; Екатеринбург, Россия*; Екатеринбург: Уральский федеральный университет; 2018. С.78-81). URL: http://hdl.handle.net/10995/66377 [дата обращения 19.06.2023].
Lerceteau-Kohler E., Roudeillac P., Markocic M., Guérin G., Praud K., Denoyes-Rothan B. The use of molecular markers for durable resistance breeding in the cultivated strawberry (*Fragaria × ananassa*). *Acta Horticulturae*. 2002;567(2):615-618. DOI: 10.17660/ActaHortic.2002.567.132
Lerceteau-Kohler E., Guerin G., Denoyes-Rothan B. Identification of SCAR markers linked to *Rca2* anthracnose resistance gene and their assessment in strawberry germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*. 2005;111:862-870. DOI: 10.1007/s00122-005-0008-1
Luk'yanchuk I.V., Lyzhin A.S., Kozlova I.I. Analysis of strawberry genetic collection (*Fragaria* L.) for *Rca2* and *Rpf1* genes with molecular markers. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(7):795-799. DOI: 10.18699/VJ18.423
Lyzhin A.S., Luk'yanchuk I.V., Zhbanova E.V. Polymorphism of the *Rca2* anthracnose resistance gene in strawberry cultivars (*Fragaria × ananassa*). *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2019;180(1):73-77. [in Russian] (Лыжин А.С., Лукъянчук И.В., Жбанова Е.В. Полиморфизм сортов земляники (*Fragaria × ananassa*) по гену устойчивости к антракнозу *Rca2*. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2019;180(1):73-77). DOI: 10.30901/2227-8834-2019-1-73-77
Lyzhin A., Luk'yanchuk I. Analysis of polymorphism of strawberry genotypes (*Fragaria* L.) according to the strawberry red root spot resistance gene *Rpf1* for identification of strawberry forms promising for breeding and horticulture. *Proceedings of the National academy of sciences of Belarus. Agrarian series*. 2020;58(3):311-320. [in Russian] (Лыжин А.С., Лукьянчук И.В. Анализ полиморфизма генотипов земляники (*Fragaria* L.) по гену устойчивости к фитофторозной корневой гнили *Rpf1* для идентификации перспективных для селекции и садоводства форм. *Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя аграрных навук*. 2020;58(3):311-320). DOI: 10.29235/1817-7204-2020-58-3-311-320
Lyzhin A., Luk'yanchuk I. Marker-assisted screening of promising forms in the strawberry breeding. *E3S Web of Conferences*. 2021;254:03002. DOI: 10.1051/e3sconf/202125403002
Lyzhin A.S., Luk'yanchuk I.V. Analysis of *Fragaria × ananassa* Duch. varieties for anthracnose resistance using diagnostic DNA markers. *Agrarian Russia*. 2022a;9:16-20. [in Russian] (Лыжин А.С., Лукъянчук И.В. Анализ сортов земляники садовой по устойчивости к антракнозу с использованием диагностических ДНК-маркеров. *Аграрная Россия*. 2022a;9:16-20). DOI: 10.30906/1999-5636-2022-9-16-20
Lyzhin A., Luk'yanchuk I. Assessment of anthracnose resistance (*Rca2* gene) at foreign strawberry varieties using DNA markers. In: *Agroecological aspects of sustainable development of the agro-industrial complex. Proceedings of the XIX International Scientific Conference; 2022 March 14-18; Bryansk, Russia*; Bryansk: Bryansk State Agrarian University; 2022b. p.81-85. [in Russian] (Лыжин А.С., Лукъянчук И.В. Оценка устойчивости к антракнозу (ген *Rca2*) сортов земляники зарубежной селекции с использованием ДНК-маркеров. В кн.: *Агроэкологические аспекты устойчивого развития АПК. Материалы XIX международной научной конференции; 14-18 марта 2022; Брянск, Россия*; Брянск: Брянский государственный аграрный университет; 2022b. С.81-85).
Marchenko L.A. Strawberry: evolution of the domestic assortment and direction of selection. *Agrarian bulletin of the Urals*. 2020;12(203):50-60. [in Russian] (Марченко Л.А. Земляника садовая: оценка отечественного сортимента и направления селекции. *Аграрный вестник Урала*. 2020;12(203):50-60). DOI: 10.32417/1997-4868-2020-203-12-50-60
Miller-Butler M.A., Smith B.J., Kreiser B.R., Blythe E.K. Comparison of anthracnose resistance with the presence of two SCAR markers associated with the *Rca2* gene in strawberry. *Horticultural Science*. 2019;54(5):793-798. DOI: 10.21273/HORTSCI13805-18
Parikka P. Disease resistance in strawberry breeding programmes - major pathogens in European strawberry production. *Acta Horticulturae*. 2004;649:49-54. DOI: 10.17660/ActaHortic.2004.649.6
Porter M., Fan Z., Lee S., Whitaker V.M. Strawberry breeding for improved flavor. *Crop Science*. 2023;63(4):1949-1963. DOI: 10.1002/csc2.21012
Salinas N., Fan Z., Peres N., Lee S., Whitaker V.M. *FaRCa1* confers moderate resistance to the root necrosis form of strawberry anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum*. *Horticultural Science*. 2020;55(5):693-698. DOI: 10.21273/HORTSCI14807-20
State Register for Selection Achievements Admitted for Usage (National List). Vol. 1 "Plant varieties" (official publication). Moscow: Rosinformagrotekh; 2023. [in Russian] (Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1. «Сорта растений» (официальное издание). Москва: Росинформагротех; 2023).
Staudt G. Strawberry biogeography, genetics and systematics. *Acta Horticulturae*. 2009;842:71-84. DOI: 10.17660/ActaHortic.2009.842.1
Stolbanova N.V. Current state of strawberry breeding in the world. *Fruit Growing*. 2006;18(1):231-241. [in Russian] (Столбанова Н.В. Современное состояние селекции земляники в мире. *Плодоводство*. 2006;18(1):231-241).
Sturzeanu M., Coman M., Ciuca M., Ancu I., Cristina D., Turcu A.G. Molecular characterization of allelic status of the *Rpf1* and *Rca2* genes in six cultivars of strawberries. *Acta Horticulturae.* 2016;1139:107-112. DOI: 10.17660/ActaHortic.2016.1139.19
Sturzeanu M., Ciuca M., Cristina D. Turcu A.G. Use of RAPD and SCAR markers for identification of strawberry genotypes with red stele resistance genes *Rpf1* and fruit rot resistance genes *Rca2* in the hybrid progenies. *Acta Horticulturae*. 2021;1309:93-100. DOI: 10.17660/ActaHortic.2021.1309.15
Van de Weg W.E. Resistance to *Phytophthora fragariae* var. *fragariae* in strawberry: the *Rpf2* gene. *Theoretical and Applied Genetics*. 1997a;94(8):1092-1096. DOI: 10.1007/s001220050520
Van de Weg W.E. A gene-for-gene model to explain interactions between cultivars of strawberry and races of *Phytophthora fragariae* var. *fragariae*. *Theoretical and Applied Genetics*. 1997b;94(3-4):445-451. DOI: 10.1007/s001220050435
Whitaker V.M. Applications of molecular markers in strawberry. *Journal of Berry Research*. 2011;1:115-127. DOI: 10.3233/BR-2011-013
Whitaker V.M., Lee S., Osorio L.F., Verma S., Roach J.A., Mangandi J., Noh Y.-H., Gezan S., Peres N. Advances in strawberry breeding at the University of Florida. *Acta Horticulturae*. 2017;1156:1-6. DOI: 10.17660/ActaHortic.2017.1156.1

Информация об авторах

Александр Сергеевич Лыжин, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии устойчивости и геномных технологий, Федеральный научный центр имени И.В. Мичурина (ФГБНУ «ФНЦ им. И.В. Мичурина»), Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и селекции плодовых растений имени И.В. Мичурина (ВНИИГиСПР), Россия 393770, Тамбовская область, Мичуринск, ул. ЦГЛ, 8, Ranenburzhetc@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-9770-8731
Ирина Васильевна Лукъянчук, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник лаборатории частной генетики и селекции растений, Федеральный научный центр имени И.В. Мичурина (ФГБНУ «ФНЦ им. И.В. Мичурина»), Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и селекции плодовых растений имени И.В. Мичурина (ВНИИГиСПР), Россия 393770, Тамбовская область, Мичуринск, ул. ЦГЛ, 8, irina.lk2011@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-1626-840X

Information about the authors

Alexander S. Lyzhin, Cand. Sci. (Agriculture), Leading Researcher, Laboratory of Physiology of Resistance and Genomic Technologies, I.V. Michurin Federal Scientific Centre (FSSI "I.V. Michurin FSC"), All Russian Research Institute of Genetics and Breeding of Fruit Plants (ARRIG&BFP), 8, CGL Street, Michurinsk, Tambov Province, 393770 Russia, Ranenburzhetc@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-9770-8731
Irina V. Luk'yanchuk, Cand. Sci. (Agriculture), Senior Researcher, Laboratory of Particular Plant Genetics and Breeding, I.V. Michurin Federal Scientific Centre (FSSI "I.V. Michurin FSC"), All Russian Research Institute of Genetics and Breeding of Fruit Plants (ARRIG&BFP), 8, CGL Street, Michurinsk, Tambov Province, 393770 Russia; irina.lk2011@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-1626-840X

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 20.07.2023; одобрена после рецензирования 15.08.2023; принята к публикации 08.09.2023.
The article was submitted on 20.07.2023; approved after reviewing on 15.08.2023; accepted for publication on 08.09.2023.

Биотехнология и селекция растений / Plant Biotechnology and Breeding

Научный рецензируемый журнал / Scientific Peer Reviewed Journal

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, AGRIS, входит в перечень изданий, публикации которых учитываются Высшей аттестационной комиссией России (ВАК РФ) при защите диссертаций на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук / Indexed/abstracted by the Russian Science Citation Index on eLIBRARY.RU platform, DOAJ, AGRIS, included in the list of publications recognized by the Russian Higher Attestation Commission (VAK RF) when candidate and doctoral dissertations are defended.

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 29.09.2023. Формат 70×100$^{1}/_{8}$.
Бумага офсетная. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 5.5. Тираж 30 экз. Заказ № 381/1.

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 ООО «Р–КОПИ»
Россия, 190000, Санкт-Петербург, Россия, пер. Гривцова, 6Б

БИОТЕХНОЛОГИЯ
И СЕЛЕКЦИЯ
РАСТЕНИЙ

6(3), 2023