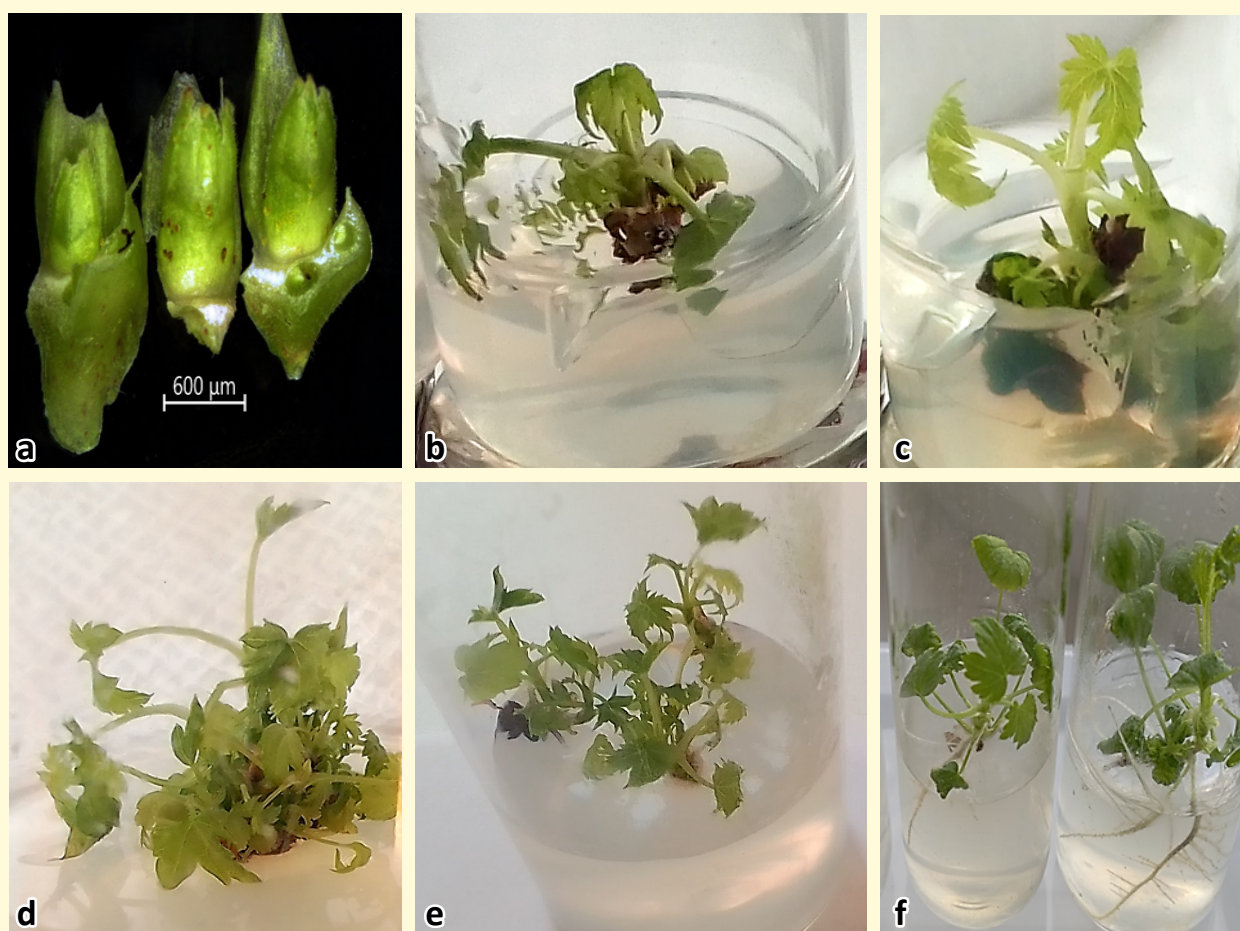


БИОТЕХНОЛОГИЯ И СЕЛЕКЦИЯ РАСТЕНИЙ

7(4), 2024



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

2024, 7(4)

ОСНОВАН В 2018 ГОДУ
ПЕРИОДИЧНОСТЬ 4 РАЗА В ГОД

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

e-mail: pbi@vir.nw.ru

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

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

DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4
УДК: 573.6:631.527

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

На обложке:

Фото. Основные этапы введения образцов смородины черной в культуру *in vitro*:

- a – выделенные пазушные почки, используемые в качестве эксплантов;
- b – адаптация экспланта к условиям культивирования *in vitro*;
- c – образование дополнительного розеточного побега;
- d – микроразмножение;
- e – культивирование отделенных розеточных побегов на среде для укоренения;
- f – сформировавшиеся микрорастения.

Материалы к статье: Дунаева С.Е., Тихонова О.А., Малышев Л.Л., Гавриленко Т.А. Влияние сроков отбора почек и метеорологических факторов на результативность введения образцов смородины черной в культуру *in vitro*. *Биотехнология и селекция растений*. DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-01

SCIENTIFIC PEER REVIEWED JOURNAL

PLANT BIOTECHNOLOGY AND BREEDING

2024, 7(4)

FOUNDED IN 2018
PUBLISHED 4 TIMES ANNUALLY

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

e-mail: pbi@vir.nw.ru

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

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

Cover photo:

Photos. Main steps of introducing black currant accessions into *in vitro* culture:

- a – isolated axillary buds used as explants;
- b – adaptation of the explant to *in vitro* culture conditions;
- c – formation of an additional rosette shoot;
- d – micropropagation;
- e – cultivation of separated rosette shoots on rooting medium;
- f – formed microplants.

Materials for the article: Dunaeva S.E., Tikhonova O.A., Malyshev L.L., Gavrilenko T.A. The influence of the timing of bud collection and meteorological factors on the effectiveness of introducing black currant accessions into *in vitro* culture. *Plant Biotechnology and Breeding*. DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-01

Биотехнология и селекция растений

2024 Том 7 № 4

DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4
<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)
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)
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. Демуринов – д.б.н. (Россия)
М. Г. Дивашук – к.б.н. (Россия)
Е. В. Думачева – д.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)
К. Г. Ткаченко – д.б.н. (Россия)
Е. К. Туруспекоев – 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)
О. Ю. Шоева – к.б.н. (Россия)
Л. А. Эльконин – д.б.н. (Россия)
Г. В. Якуба – к.б.н. (Россия)

Plant Biotechnology and Breeding

2024 Volume 7 No 4
DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4
<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)
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)
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)
E. V. Dumacheva – Dr. 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)
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)
K. G. Tkachenko – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
Ya. A. Tsepilov – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
E. K. Turuspekov – Cand. Sci. in Biol.
E. V. Ulyanovskaya – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
O. Yu. Urbanovich – Dr. Sci. in Biol. (Belarus)
M. A. Vishnyakova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
G. V. Yakuba – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
R. Sh. Zaremuk – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
S. V. Zelentsov – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)

СОДЕРЖАНИЕ

ОТ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА 5

Е. К. Хлесткина
ВСТУПИТЕЛЬНАЯ СТАТЬЯ

РАЗВИТИЕ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ СЕЛЕКЦИИ 7

Брач Н.Б., Васипов В.В., Павлов А.В., Шеленга Т.В.
Научная статья
Влияние генотипа и погодных условий Северо-Западного региона РФ на жирнокислотный состав масла семян льна (*Linum usitatissimum* L.)

Межина К.М., Тихонова Н.Г. 18

Обзорная статья
Гены-кандидаты, контролирующие вкусовые качества плодов земляники садовой (*Fragaria × ananassa* Duch.).

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ 31

Рыбаков Д.А., Ким И.В., Иващенко А.Д., Шерстюкова Т.П., Антонова О.Ю., Гавриленко Т.А.
Научная статья
Номенклатурные стандарты и генетические паспорта сортов картофеля селекции Камчатского НИИСХ и ФНЦ агробιοтехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки

Анисимова И.Н., Алпатьева Н.В., Рязанова М.К., Бердиган Р.Д., Радченко Е.Е., Гаврилова В.А. 56
Научная статья

Генотипирование линий генетической коллекции подсолнечника ВИР с использованием аллель-специфичных маркеров локуса Rf1

Модоров М.В., Киселева О.А., Полежаева М.А., Чеботок Е.М. 68
Научная статья

Разработка мультиплексного набора микросателлитных маркеров для генетической идентификации черной смородины (*Ribes nigrum* L.)

CONTENTS

FROM THE EDITOR IN CHIEF 5

E. K. Khlestkina
INTRODUCTORY ARTICLE

DEVELOPMENT OF MODERN BREEDING METHODS 7

Brutch N.B., Vasipov V.V., Pavlov A.V., Shelenga T.V.
Original article
Influence of the genotype and weather conditions of the Northwestern region of the Russian Federation on the linseed (*Linum usitatissimum* L.) oil fatty acid composition

Mezhina K.M., Tikhonova N.G. 18

Review article
Candidate genes controlling the taste qualities of garden strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) fruits

STUDY OF PLANT GENETIC RESOURCES USING MOLECULAR GENETICS METHODS 31

Rybakov D.A., Kim I.V., Ivashchenko A.D., Sherstyukova T.P., Antonova O.Yu., Gavrilenko T.A.
Original article
Nomenclatural standards and genetic passports of potato cultivars bred by the Kamchatka Research Institute of Agriculture and the Federal Scientific Center of Agricultural Biotechnology of the Far East named after A.K. Chaika

Anisimova I.N., Alpatieva N.V., Ryazanova M.K., Berdigan R.D., Radchenko E.E., Gavrilova V.A. 56
Original article

Genotyping of lines from the VIR sunflower genetic collection using allele-specific markers of the Rf1 locus

Modorov M.V., Kiseleva O.A., Polezhaeva M.A., Chebotok E.M. 68
Original article

Development of multiplex microsatellite markers set for black currant (*Ribes nigrum* L.) genetic identification

СОДЕРЖАНИЕ

СОХРАНЕНИЕ ГЕНТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ 82

*Андропова Е.В., Бутузова О.Г.,
Ковалева А.А., Семенова Е.Ю.*

Научная статья

Микроклональное размножение
Cardiocrinum cordatum var. *glehnii*
(Liliaceae) с использованием культуры
изолированных зародышей

*Дунаева С.Е., Тихонова О.А., Малышев Л.Л.,
Гавриленко Т.А.* 92

Научная статья

Влияние сроков отбора почек
и метеорологических факторов на
результативность введения образцов
смородины черной в культуру *in vitro*

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ 105

*Семилет Т.В., Шупилина Л.Ю., Хлесткина Е.К.,
Швачко Н.А.*

Краткое сообщение

ПЦР-тест для установления
принадлежности разрушенных остатков
карбонизированных семян к роду
Hordeum L.

CONTENTS

CONSERVATION OF PLANT GENETIC RESOURCES USING BIOTECHNOLOGICAL APPROACHES 82

*Andronova E.V., Butuzova O.G., Kovaleva A.A.,
Semenova E.Yu.*

Original article

Microclonal propagation of *Cardiocrinum
cordatum* var. *glehnii* (Liliaceae) using the
culture of isolated embryos

*Dunaeva S.E., Tikhonova O.A., Malyshev L.L.,
Gavrilenko T.A.* 92

Original article

The influence of the timing of bud
collection and meteorological factors on the
effectiveness of introducing black currant
accessions into *in vitro* culture

BRIEF COMMUNICATIONS 105

*Semilet T.V., Shipilina L.Yu., Khlestkina E.K.,
Shvachko N.A.*

Brief communication

PCR test to determine whether the destroyed
remains of carbonized seeds belong to the
genus *Hordeum* L.



Уважаемые читатели!

В настоящем выпуске мы продолжаем серию публикаций о реализации комплексной стратегии регистрации и сохранения отечественных сортов вегетативно размножаемых культур в коллекции, которая включает создание и сохранение в научном гербарии номенклатурного стандарта сорта, его молекулярно-генетическую паспортизацию и сохранение в живом виде в *in vitro* и крио-коллекциях ВИР. Комплексная работа проведена для 11 сортов картофеля селекции Камчатского НИИ сельского хозяйства и ФНЦ агробιοтехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки, результаты представлены в статье Д.А. Рыбакова с соавторами.

Основой для реализации описанной выше стратегии по регистрации и сохранению отечественных сортов вегетативно размножаемых культур является предварительная разработка и усовершенствование комплекс-

ных методических подходов для каждой культуры. Представляем вашему вниманию статью М.В. Модорова с соавторами, описывающую успешную разработку мультиплексного набора микросателлитных маркеров для генетической идентификации сортов черной смородины, и результаты исследования С.Е. Дунаевой с соавторами, нацеленного на установление наиболее оптимальных сроков и условий отбора почек сортов черной смородины для введения их в культуру *in vitro*.

В части разработки и усовершенствования методических подходов по введению образцов в культуру *in vitro* вашему вниманию в настоящем выпуске также предложена публикация Е.В. Андроновой с соавторами, посвященная декоративной культуре *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (F. Schmidt) H. Nara из семейства лилейных. В развитие направлений использования диагностических ДНК-маркеров – результаты исследования Т.В. Семилет с соавторами, посвященного разработке ПЦР-теста для установления принадлежности разрушенного биоматериала к роду *Hordeum* L. в рамках решения задач в сфере палеогенетики.

Для читателей, нацеленных на новые достижения в селекции масличных культур, интерес будут представлять опубликованные в выпуске результаты исследований И.Н. Анисимовой с соавторами, демонстрирующие эффективность и диагностическую ценность аллель-специфичных маркеров генов-кандидатов локуса Rf1, а также работа Н.Б. Брач с соавторами, в которой продемонстрировано, что для сортов, обладающих доминантными аллелями генов *FAD3A* и *FAD3B*, характерно умень-

шение в семенах доли олеиновой кислоты и увеличение доли линоленовой при понижении температуры воздуха, при этом засуха на состав данных жирных кислот не оказывала существенного влияния, зато сокращала содержание в зрелых семенах короткоцепочечных минорных кислот вплоть до их полного отсутствия.

В развитие работ, нацеленных на улучшение качества растениеводческой продукции, интерес представляет аналитический обзор К.М. Межиной и Н.Г. Тихоновой о потенциальных мишенях для улучшения органолепти-

ческих показателей плодов земляники. Отмечено несколько групп генов, мутации в которых могут приводить к изменению вкусовых качеств ягод.

*Главный редактор,
профессор РАН
Е.К. Хлесткина*

Научная статья

УДК 577.115.3

DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-05



Влияние генотипа и погодных условий Северо-Западного региона РФ на жирнокислотный состав масла семян льна (*Linum usitatissimum* L.)

Н. Б. Брач, В. В. Васипов, А. В. Павлов, Т. В. Шеленга

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

Автор, ответственный за переписку: Нина Борисовна Брач, n.brutch@vir.nw.ru

Лен – одна из основных масличных культур, посевы которой в последние годы значительно расширились, в том числе на территории с более суровым климатом. Для устойчивого получения высоких урожаев надлежащего качества необходим анализ влияния новых условий на потребительские свойства получаемой продукции. В работе проанализировано влияние погодных условий Северо-Запада РФ на жирнокислотный состав масла различных сортов масличного льна. Методом газовой хроматографии проанализировано содержание 16 жирных кислот у 20 сортов и линий из коллекции ВИР, выращенных в Ленинградской области в 2016-2018 годах и характеризующихся различным происхождением и разным составом масла. Установлено, что генотип практически не влияет на содержание в зрелых семенах короткоцепочечных минорных кислот (до C14), а также элаидиновой кислоты. При этом засуха сокращает их долю в масле вплоть до полного отсутствия. Количество длинноцепочечных кислот зависит как от генотипа, так и от условий выращивания. Доля линолевой и линоленовой кислот практически полностью определяется генотипом. В то же время нами подтверждены данные других авторов о том, что понижение температуры воздуха приводит к уменьшению доли олеиновой кислоты и увеличению доли линоленовой. Однако это справедливо только для сортов, содержащих большое количество линоленовой кислоты, то есть несущих доминантные аллели генов *FAD3A* и *FAD3B*, контролирующих последний этап десатурации жирных кислот у льна.

Ключевые слова: лен-масличный, *Linum usitatissimum* L., жирные кислоты, погодные условия, температура воздуха

Благодарности: работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № FGEM-2022-0005 «Растительные ресурсы масличных и прядильных культур ВИР как основа теоретических исследований и их практического использования»

Для цитирования: Брач Н.Б., Васипов В.В., Павлов А.В., Шеленга Т.В. Влияние генотипа и погодных условий Северо-Западного региона РФ на жирнокислотный состав масла семян льна (*Linum usitatissimum* L.) *Биотехнология и селекция растений*. 2024;7(4):7-17. DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-05

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

© Брач Н.Б., Васипов В.В., Павлов А.В., Шеленга Т.В., 2024

Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-o5

Influence of the genotype and weather conditions of the Northwestern region of the Russian Federation on the linseed (*Linum usitatissimum* L.) oil fatty acid composition

Nina B. Brutch, Valdimir V. Vasipov, Andrey V. Pavlov, Tatiana V. Shelenga

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

Corresponding author: Nina B. Brutch, n.brutch@vir.nw.ru

Linseed is one of the main oil crops, the sowing area of which have expanded significantly in recent years and spread to the areas with a more severe climate. In order to achieve sustainable high yields of appropriate quality, it is necessary to analyze the impact of new climate conditions on the consumer properties of the products obtained. Current paper analyzes the influence of weather conditions of the Northwest of the Russian Federation on the oil fatty acid composition of different linseed cultivars. The content of 16 fatty acids was analyzed by gas chromatography in 20 cultivars and lines from the VIR collection grown in the Leningrad Region in 2016-2018 and characterized by different origins and different oil compositions. The content of 16 fatty acids was analyzed by gas chromatography. It was found that the genotype has practically no effect on the content of acids with short carbon chain (up to C14) and elaidic acid detected in mature seeds. At the same time, drought reduced their fraction in oil up to the point of complete absence. The amount of long-chain acids depended on both the genotype and the cultivation conditions. The fractions of linoleic and linolenic acids were almost totally determined by the genotype. At the same time, we have confirmed the data obtained by other authors reporting that a decrease in air temperature leads to a decrease of the amount of oleic acid and an increase in the fraction of linolenic acid. However, this is true only for the cultivars containing a large amount of linolenic acid, that is, for those bearing dominant alleles of the *FAD3A* and *FAD3B* genes that control the last stage of fatty acid desaturation in flax.

Keywords: flax, linseed, *Linum usitatissimum*, genetic collection, chlorophyll color genes, chloroplast genes, multiple marked lines

Acknowledgements: The studies were conducted within the framework of the State Assignment to VIR according to the Thematic Plan, Project No. FGEM-2022-0005 “Plant resources of oil and fiber crops at VIR as the basis for theoretical research and their practical utilization”.

For citation: Brutch N.B., Vasipov V.V., Pavlov A.V., Shelenga T.V. Influence of the genotype and weather conditions of the Northwestern region of the Russian Federation on the linseed (*Linum usitatissimum* L.) oil fatty acid composition. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2024;7(4):7-17. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-o5

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.

© Brutch N.B., Vasipov V.V., Pavlov A.V., Shelenga T.V., 2024

Введение

Масличный лен является одной из основных маслических культур в Российской Федерации. В последнее время прослеживается тенденция продвижения этой культуры в более северные регионы, в том числе на поля, ранее занимаемые льном-долгунцом, что требует анализа возможности получения качественной продукции в новых условиях. Востребованность данной культуры обуславливают уникальные свойства масла семян, которые, в свою очередь, определяются соотношением в нем основных предельных: стеариновой с диапазоном внутривидовой изменчивости 3-4% и пальмитиновой (5-7%), а также непредельных: олеиновой (16-20%), линолевой (14-70%), линоленовой (2-60%) жирных кислот (Gavrilova et al., 2020). Соотношение количества предельных и непредельных кислот в масле льна определяет его свойства и основные направления использования. В масле традиционных и большинства современных сортов преобладает линоленовая кислота (C18:3), благодаря которой льняное масло обладает уникальными целебными свойствами (Cunnane, 1995) и техническими характеристиками, но одновременно она способствует его быстрому прогорканию, что затрудняет применение масла в пищевой промышленности (Gavrilova et al., 2005).

Доли различных жирных кислот в растительном масле тесно связаны между собой, так как синтез этих кислот представляет собой единую цепь биохимических реакций. Он начинается с карбоксилирования ацетил-СoА и образования малонил-СoА. На следующем этапе ацетил-КоА – карбоксилирующий комплекс инициирует формирование малонил-ацильного белка-переносчика (АСР), который является исходным субстратом при синтезе жирных кислот (Durrett et al., 2008). Образовавшийся малонил-КоА присоединяется к растущей углеродной цепи. За счет последовательного присоединения двууглеродных фрагментов формируются миритоил- и пальмитоил- АЦФ (Tai, Jaworski, 1993). Рост углеродной цепи катализирует комплекс ацетил-КоА карбоксилазы (Nikolaou et al., 2003). За остановку элонгации молекул отвечают ацил-АЦФ-тиоэстеразы; которые гидролизуют АЦФ, вследствие чего образуются свободные жирные кислоты. За десатурацию углеродных цепей отвечает система ферментов-десатураз (Somerville et al., 2000).

Генетический контроль синтеза жирных кислот льна изучен достаточно подробно. Известно, что удлинение углеродной цепи от C16 до C18 осуществляет синтаза, контролируемая геном *FAB1*. Образование двойных связей между атомами углерода осуществляется десатуразной ферментной системой, контролируемой генами *SAD1* и *SAD2*, продукты которых преобразуют стеариновую кислоту в олеиновую. Установлена структура этих генов и их белковых продуктов, которые гомологичны и имеют степень сходства 99%. Для *SAD1* описано 4 изоформы (Radovanovic et al., 2014).

Следующий этап десатурации с формированием вто-

рой двойной связи в 9 положении углеродной цепи приводит к образованию линолевой кислоты (C18:2) – этот процесс контролируют гены *FAD2A* и *FAD2B*. (Fofana et al., 2006). Линоленовая кислота (C18:3) образуется под действием генов *FAD3A*, *FAD3B* и *FAD3C*. Для *FAD3A* известно шесть изоформ, четыре из которых не приводят к инактивации фермента. Только две изоформы не дают полноценного продукта. Это: *B* – из-за нонсенс-мутации в первом экзоне и *C* – в связи с заменой гистидина на тирозин в первом His-box активного центра десатуразы. Все образцы с генами, не имеющими функционального продукта, получены с помощью EMS-мутагеназа (Vrinten et al., 2005, Banik et al., 2011, Thambugala et al., 2013). Кроме того, все перечисленные гены имеют множественные аллели, характеризующиеся делециями и точковыми мутациями (Khadake et al., 2009, Krasowska et al., 2007). У льна гены, контролирующие десатуразу-2, считаются основными определяющими жирнокислотный состав масла. При этом продукт гена *FAD2B* имеет больший эффект, чем *FAD2A* (Fofana et al., 2006). *FAD3A* и *FAD3B* гомологичны и имеют степень сходства более чем 95%, но, как было установлено (Banik et al., 2011), последний имеет более высокий уровень экспрессии. Однако экспрессия генов десатураз значительно не различалась у образцов с разным жирнокислотным составом масла (Thambugala, Cloutier, 2014). В то же время были обнаружены различия динамики экспрессии генов десатураз и соответствие их дифференциальных профилей различиям накопления жирных кислот у генотипов с высоким и низким уровнем линоленовой кислоты (Rajwade et al., 2014). Таким образом, механизм экспрессии описанных генов требует дальнейшего изучения.

К настоящему времени проведено много экспериментов по тестированию влияния различных факторов среды на состав масла семян растений. Многие из них были посвящены анализу активности десатураз в разных условиях выращивания. У арабидопсиса было отмечено изменение экспрессии генов и содержания соответствующих белков для $\Delta 9$, $\Delta 12$, и $\Delta 15$ десатураз в различных условиях (Vega et al., 2004; Teixeira et al., 2009; Teixeira et al., 2010). Кроме того, были найдены QTL маркеры для $\Delta 6$ десатуразы (Menard et al., 2017). В некоторых экспериментах было показано, что повышение температуры снижает активность десатураз за счет их разрушения (Dar et al., 2017). Это объясняет увеличение содержания линоленовой кислоты в семенах льна при снижении температуры воздуха (Hatanaka et al., 2021).

Впервые низколиноленовые селекционные сорта льна (solin) ‘LinolaTM’ появились только в конце 70-х годов прошлого века в Канаде на основе мутантов австралийского происхождения (Green, 1986). Они содержат около 2% линоленовой кислоты и являются двойными рецессивными гомозиготами по комплементарным генам *lufad3a* и *lufad3b* (изначально названным *ln1* и *ln2*). Затем были выведены другие сорта, как потомки сорта ‘Linola’, так и полученные независимо от него. Таким образом, сфор-

мировались две группы сортов: высоколиноленовые, содержащие в масле от 30 до 70% линоленовой кислоты, и низколиноленовые, имеющие около 3% линоленовой кислоты. Ценными для селекции льна считают гены *fad3a* и *fad3b*, так как они кодируют десатуразы, превращающие линолевую кислоту в линоленовую, необходимую для технического масла, но нежелательную для пищевого (You et al., 2014). При поступлении в коллекцию ВИР у таких образцов было подтверждено пониженное содержание линоленовой кислоты в масле (Brutch et al., 2016).

В настоящее время набирают популярность среднелиноленовые сорта. Их масло может храниться дольше, чем высоколиноленовое, оно полезнее, чем низколиноленовое. Одним из первых был создан сорт 'Raciol' (Чехия, Агритек), который обладает примерно одинаковым количеством линолевой и линоленовой кислот (Tejcklova et al., 2011). В ВИРе создана линия, у которой снижение содержания линолевой и линоленовой кислот в масле происходит за счет увеличения доли олеиновой (Porokhvinova et al., 2019).

Хотя гены, контролирующие биосинтез жирных кислот у льна довольно подробно описаны, влияние условий выращивания льна на качество масла изучено далеко

недостаточно. Наши предыдущие исследования, проведенные в Томской области, показали, что погодные условия года выращивания достоверно влияют только на содержание лауриновой, пальмитиновой, стеариновой и цис-вакценовой кислот (Porova et al., 2021). Кроме того, было установлено значительное случайное варьирование, включавшее в себя в данном случае взаимодействие генотипов с погодными условиями, особенно для количества миристиновой, пальмитолеиновой, маргариновой, эйкозеновой, арахидоновой, бегеновой кислот. Такие результаты указывают на необходимость дальнейшего изучения данного вопроса для получения продукции стабильно высокого качества. В связи с этим, целью наших настоящих исследований явился дальнейший анализ влияния погодных условий на жирнокислотный состав масла семян аналогичного набора сортов масличного льна, выращенных в Северо-Западном регионе.

Материалы и методы

Материалом для исследований послужили 20 образцов масличного льна из коллекции ВИР, различающиеся по жирнокислотному составу масла (табл. 1).

Таблица 1. Образцы масличного льна, выращенные в 2016-2018 годах на полях Пушкинских лабораторий ВИР

Table 1. Oil flax accessions grown in 2016-2018 in the fields of the Pushkin laboratories of VIR

№ по кат. ВИР/ Number	Название/ Name	Происхождение/ Origin
к-5831	'ВИР 1650'	Российская Федерация
к-8156	'Северный'	Российская Федерация
к-8409	'Кинельский 2000'	Российская Федерация
к-5579	'Воронежский 1308'	Российская Федерация
к-8438	'Айсберг'	Российская Федерация
к-8451	'Shanxi'	Китай
к-8599	'Walaga'	Австралия
к-8605	'Amon'	Чехия
к-8606	'Omega'	Канада
к-8677	'Исток'	Российская Федерация
к-8843	IDG 4101	Чехия
к-8587	л-1-1 из к-6272 ('L. Dominion')	Ирландия
к-8589	л-2 из к-6392 ('Bolley Golden')	США
к-8597	л-1-2 из и-601679 ('Eyre')	Австралия
и-0148214	л-1 из к-6298 ('Minerwa')	США
и-0151239	л-1 из к-3730	Китай
и-0139791	л-2-3 из к-6210 (NP (RR) 38)	Индия
и-0139804	л-1 к-6608 ('Currong')	Австралия
и-0139808	л-1 к-6634 ('Mermilloid')	Чехия
л-3 из и-620805	№ 854	Великобритания

Семена высевали в 2016-2018 годах в начале мая по 8 граммов на делянку площадью 1м², с междурядьями 12,5 см согласно методическим указаниям (Kutuzova, Pitko, 1988). Семена были собраны в фазе желтой

спелости.

Метеорологические наблюдения проводили непосредственно на экспериментальном поле (табл. 2).

Таблица 2. Среднемесячные температуры воздуха и месячные суммы осадков
Table 2. Average monthly air temperatures and monthly precipitation amounts

Месяц/ Month	Среднемесячная температура воздуха, °C/ Average monthly air temperature, °C			Месячная сумма осадков, мм/ Total monthly precipitation, mm		
	Год/ Year			Год/ Year		
	2016	2017	2018	2016	2017	2018
май/ May	17,5	10,6	13,4	17,8	6,9	26,9
июнь/ June	18,0	15,4	15,1	63,8	119,3	9,2
июль/ July	19,6	17,7	19,2	174,2	177,9	77,1
август/ August	18,2	18,2	16,7	174,3	237,4	42,9

Лето сезона 2016 года отличалось относительно ровной теплой погодой. Недостаток дождей весной был восполнен во второй половине лета (см. табл. 2). Весна 2017 года была самой холодной и засушливой, но к концу сезона температура воздуха повысилась, пошли дожди. Температура воздуха в 2018 году была невысокой и только в июле сравнялась с показателем 2016 года. Кроме того, летние месяцы 2018 года оказались самыми засушливыми.

Жирно-кислотный состав масла всех выращенных в рамках данного опыта семян льна был определен в 2024 году методом газовой хроматографии. Для анализа 0,1 г семян каждого образца измельчали и смешивали с 1,5 мл н-гексана, встряхивали на шейкере Vortex 3 (ИКА, Германия), затем центрифугировали при 10 000 g в течение трех минут на центрифуге Eppendorf 5414R (Eppendorf AG, Германия). Гексановую фракцию выпаривали досуха в среде газообразного азота, затем добавляли 0,5 мл 0,1 молярного раствора гидроксида натрия в метаноле и нагревали в течение 15 мин при 100°C для получения метиловых эфиров жирных кислот. После охлаждения в пробирку помещали 0,5 мл н-гексана, энергично встряхивали с помощью шейкера Vortex 3, затем фракцию гексана переносили в пробирку для газовой хроматографии (Grigoriev et al., 2023). Газохроматографический анализ проводили на газовом хроматографе Хроматек-Кристалл-5000.2NP (ЗАО СКБ «Хроматек», Россия) с пламенно-ионизационным детектором. Метиловые эфиры жирных кислот разделяли на полярной колонке Omegawax TM 250 (полиэтиленгликоль, 30,0 мкм, 250,00 мкм, 0,25 мкм; США) при нагревании от 170°C до 220°C, при скорости нагревания 3°C/мин.; объем вводимой пробы – 1,0 мкл, расход гелия – 1,3 мл/мин. Иденти-

фикацию жирных кислот проводили с использованием времени выдержки стандартной смеси метиловых эфиров жирных кислот (37 компонентов, 47885U, Supelco, США). Хроматограммы обрабатывали с использованием программ Хроматек Навигатор – 3.0.2402.14 (ЗАО СКБ «Хроматек», Россия). Содержание метиловых эфиров жирных кислот рассчитывали методом внутренней нормализации, содержание каждой жирной кислоты выражали в процентах от общего содержания жирных кислот (Приложение). Математическую обработку полученных результатов проводили с использованием дисперсионного анализа в программе Excel.

Результаты

Масляная кислота (С:4). Процесс биосинтеза жирных кислот начинается с образования масляной кислоты. В репродукции семян 2018 года масляная кислота не была обнаружена ни у одного из изученных сортов. Некоторые образцы в 2016 или 2017 годах содержали от 0,004% до 1,438% масляной кислоты, причем в 2016 году, когда температура воздуха была выше, таких образцов было больше. Только китайский образец к-8451, 'Shanxi' содержал 0,005% и 0,036% этой кислоты в 2016 и 2017 годах соответственно. У 11 образцов масляная кислота не была обнаружена совсем (см. Приложение). По результатам дисперсионного анализа (табл. 3) высокая доля неучтенных факторов, влиявших на содержание масляной кислоты, которая в данном случае включает в себя взаимодействие генотипической и средовой составляющих изменчивости признака (65,0%), не позволила достоверно определить доли влияния генотипа и погодных условий на ее количество в семенах льна.

Таблица 3. Доля влияния генотипа и года воспроизведения образца на содержание жирных кислот в масле семян льна по результатам двухфакторного дисперсионного анализа

Table 3. The influence of genotype and year of accession regeneration on the fatty acids content in linseed oil according to the two-way ANOVA results

Жирная кислота/ Fatty acid	Доля влияния, % Percentage of influence		
	генотип/ genotype	год/ year	неучтенные факторы/ unaccounted factors
Масляная (C:4)	31,4	3,6	65,0
Капроновая (C6:0)	33,0	11,0*	56,0
Каприловая (C8:0)	39,9	3,7	56,4
Каприновая (C10:0)	9,0	70,6*	20,4
Ундециловая (C11:0)	31,4	7,4	61,2
Лауриновая (C12:0)	8,6	77,5*	13,9
Тридециловая (C13:0)	15,9	61,4*	22,7
Миристиновая (C14:0)	68,4*	23,4*	8,3
Пальмитиновая (C16:0)	89,3*	5,6*	5,1
Пальмитолеиновая (C16:1)	69,1*	27,0*	3,9
Стеариновая (C18:0)	66,1*	24,1*	9,8
Элаидиновая (C18:1 транс-9)	27,7	33,3*	39,0
Олеиновая (C18:1 цис-9)	37,0*	52,9*	10,2
Вакценовая (C18:1 цис-11)	34,1*	35,1*	30,8
Линолевая (C18:2 цис-9,12)	99,1*	0,0	0,9
Линоленовая (C18:3 цис-9,12,15)	97,8*	1,1*	1,0

* – Влияние фактора достоверно при $p < 0,05$ / The influence of the factor is reliable at $p < 0.05$

Капроновая кислота (C6:0). На следующем этапе биосинтеза образуется капроновая кислота. В 2018 году капроновая кислота была обнаружена только в половине всех изученных образцов в количестве от 0,007% до 0,015%. В 2016 и 2017 годах ее синтезировали все изученные образцы в количестве от 0,004% до 0,183%. Ее максимальное количество было зафиксировано у образца №854 из Великобритании (к-8994) в 2016 году (см. Приложение). Дисперсионный анализ показал низкое, но все же достоверное влияние погодных условий на содержание в масле капроновой кислоты – 11,0% – с высокой долей влияния неучтенных факторов – 56,0%. Влияние генотипа на количество капроновой кислоты в семенах изученных сортов хотя и составило 33%, но было статистически незначимо.

Каприловая кислота (C8:0). Каприловая кислота была обнаружена практически во всех образцах за исключением четырех, выращенных в 2018 году – ‘Айсберг’ (к-8438), ‘Eure’, Австралия (к-8597), л-1-2 из и-601679 ‘Mermiloid’ (и-0139808) и №854 из Великобритании (к-8994). Максимальное ее содержание было зафиксировано в 2018 году у линии-1 из к-6608, ‘Currong’ (Австралия) – 0,024% (см. Приложение). Дисперсионный анализ

не выявил достоверного влияния генотипа или погодных условий на синтез каприловой кислоты при высокой доле неучтенных факторов – 56,4%, включавшей в данном случае взаимодействие генотипа и условий выращивания.

Каприновая кислота (C10:0). В 2016 и 2017 годах присутствие каприновой кислоты зафиксировали во всех образцах в количестве от 0,004% до 0,017%. В 2018 году она присутствовала только в образце IDG 4101 из Чехии (к-8843) в количестве 0,008% (см. Приложение). Дисперсионный анализ показал сильное достоверное влияние именно условий года – 70,6% – на количество каприновой кислоты в масле льна.

Ундециловая кислота (C11:0). В 2018 году ундециловая кислота тоже не была обнаружена ни в одном из изученных образцов. В 2016 и 2017 годах она присутствовала во всех изученных образцах в концентрациях от 0,001% до 0,007%. Исключение составил только сорт ‘ВИР 1650’, у которого в 2017 году было обнаружено 0,078% этой кислоты (см. Приложение). Дисперсионный анализ не выявил достоверного влияния генотипа или погодных условий на синтез ундециловой кислоты при высокой доле влияния неучтенных факторов, включавшей в себя взаимодействие генотипа и комплекса внешних условий – 61,2%.

Лауриновая кислота (C12:0). В 2018 году лауриновая кислота была обнаружена только в одном образце – IDG 4101 из Чехии (к-8843) в количестве 0,007%. В 2016 и 2017 годах ее присутствие зафиксировали во всех образцах в количестве от 0,002% до 0,008% (см. Приложение). При этом дисперсионный анализ показал сильное достоверное – 77,5% – влияние условий года на содержание лауриновой кислоты в масле льна.

Тридециловая кислота (C13:0). В 2018 году тридециловая кислота была обнаружена в большинстве изученных образцов кроме линий: 2 из к-6392, ‘Bolley Golden’ (к-8589), 1-2 из и-601679 ‘Eure’ (к-8597) и 1 к-6634 ‘Mermiloid’ (и-0139808). В 2016 и 2017 годах она присутствовала во всех образцах в количестве от 0,007% до 0,039% (см. Приложение). Дисперсионный анализ показал сильное достоверное – 61,4% – влияние условий года на образование тридециловой кислоты в масле льна.

Миристиновая кислота (C14:0). Миристиновая кислота формировалась в семенах всех образцов во все годы изучения в количествах от 0,031% до 0,063% (см. Приложение). Дисперсионный анализ показал достоверное влияние генотипа и условий года – 68,4% и 23,4%, соответственно – на синтез этой кислоты.

Пальмитиновая кислота (C16:0). За годы изучения содержание пальмитиновой кислоты в масле образцов семян льна составляло от 4,5% до 7,0%. При этом, у всех изученных образцов коэффициент вариации ее доли в общей массе жирных кислот по годам не достигал 8% (см. Приложение). Дисперсионный анализ показал достоверное влияние генотипа – 89,3% – и погодных различий – 5,6% – на ее содержание в масле при доле неучтенных факторов – 5,1%.

Пальмитолеиновая кислота (C16:1). Содержание пальмитолеиновой кислоты в 2016-2018 годах у всех изученных образцов варьировало от 0,037% до 0,136%. В среднем за 3 года изучения самое низкое содержание пальмитиновой кислоты было у линии-1 из к-6608, ‘Currong’ (Австралия) – 0,044%, а самое высокое – 0,108% – в образце IDG 4101 из Чехии (к-8843) (см. Приложение). Дисперсионный анализ, как и в случае пальмитиновой кислоты, выявил достоверное влияние генотипа – 69,1% – и погодных различий – 27,0% – на ее содержание в масле.

Стеариновая кислота (C18:0). В изученных за трехлетний период образцах содержание стеариновой кислоты варьировало от 2,4% до 5,8%. В среднем за три года изучения самое низкое содержание стеариновой кислоты было у линии-1 из к-3730 (Китай) – 2,6%, а самое высокое – 4,8% – у линии-1 из к-6608, ‘Currong’ (Австралия) (см. Приложение). Как и для пальмитиновой и пальмитолеиновой кислот дисперсионный анализ показал достоверное влияние генотипа – 66,1% – и погодных различий – 24,1% – на ее содержание в масле при доле неучтенных факторов – 9,8%.

Элаидиновая кислота (C18:1 транс-9). В 2018 году элаидиновая кислота была обнаружена только в шести

образцах из 20 в количестве от 0,022% до 0,026%. В 2016 и 2017 годах ее содержание варьировало от 0,006% до 0,035%. В среднем за три года изучения больше всего элаидиновой кислоты синтезировал сорт ‘Северный’ (к-8156) – 0,024%, а меньше всех – линия-1 из к-3730 (Китай) – 0,007% (см. Приложение). По результатам дисперсионного анализа ее содержание достоверно зависело только от условий выращивания – 33,3%.

Олеиновая кислота (C18:1 цис-9). За три года изучения 20 образцов льна содержание олеиновой кислоты в масле варьировало от 11,3% до 23,6%, причем самое низкое ее содержание наблюдали в 2017 году в среднем – 13,3%, а самое высокое в среднем – 19,0% – в 2016 году. Самыми продуктивными в отношении этой кислоты за три года изучения – больше 19,0% – стали линия-1 из к-6608, ‘Currong’ (Австралия), линия 2-3 из индийского образца NP (RR) 38 (к-6210) и линия 1-2 из и-601679 сорта ‘Eure’ (к-8597) (см. Приложение). Дисперсионный анализ показал достоверное влияние генотипа – 37,0% – и погодных условий – 52,9% – на ее содержание.

Вакценовая кислота (C18:1 цис-11). Вакценовая кислота была обнаружена почти во всех пробах кроме масла сортов ‘ВИР 1650’ (к-5831) и ‘Северный’ (к-8156) репродукции 2017 года. Во всех остальных вариантах опыта ее содержание варьировало от 0,41% до 0,97%. В среднем за три года изучения больше всего вакценовой кислоты содержали семена образца IDG 4101 из Чехии (к-8843) – 0,81%. Меньше всего ее синтезировал сорт ‘Северный’ (к-8156) – 0,47% (см. Приложение). Дисперсионный анализ показал достоверное влияние на ее содержание как генотипа, так и условий выращивания – 34,1% и 35,1%, соответственно.

Линолевая кислота (C18:2 цис-9.12). По содержанию линолевой кислоты изученные образцы можно разделить на две группы: 1. Сорта с высоким ее содержанием – в среднем за три года 60 и более процентов: ‘Amon’, Чехия (к-8605), ‘Walaga’, Австралия (к-8599), ‘Исток’ (к-8677), образец №854 из Великобритании (к-8994) и линия 1-2 из и-601679 ‘Eure’ (к-8597), и низким – 12%-18% (см. Приложение). Дисперсионный анализ показал, что за 99% изменчивости содержания линолевой кислоты отвечает генотип.

Линоленовая кислота (C18:3 цис-9.12.15). По содержанию линоленовой кислоты изученные образцы четко разделились на две группы: большинство синтезировало большое ее количество – 51%-60%, но у некоторых её доля составила только 4-6%: ‘Amon’, Чехия (к-8605), линия 1-2 из и-601679 ‘Eure’ (к-8597) и образец №854 из Великобритании (к-8994). Особый интерес представляет сорт ‘Walaga’, Австралия (к-8599), масло которого содержало в среднем за три года 12,6% линоленовой кислоты. Таким образом, образцы с высоким содержанием линолевой кислоты имели мало линоленовой и наоборот (см. Приложение). По результатам дисперсионного анализа ее содержание достоверно – на 97,8% – зависело от генотипа и лишь на 1,1% – от условий года выращивания.

Обсуждение

Самой короткоцепочечной жирной кислотой, с которой начинается биосинтез всех остальных кислот, является масляная кислота. Тот факт, что у девяти образцов она не была обнаружена ни в один из трех лет изучения, указывает на то, что она, скорее всего, была полностью израсходована растениями для синтеза более длинноцепочечных молекул. Лишь в отдельных случаях некоторое ее количество оставалось в семенах до момента созревания. Основная доля изменчивости наличия масляной кислоты в зрелых семенах по результатам дисперсионного анализа приходилась на неучтенные факторы – 65%, которые в данном случае включают в себя взаимодействие генотипа и погодных условий. На существенную зависимость сохранения масляной кислоты от погодных условий, а главное – от количества осадков, указывает и тот факт, что она совсем не была обнаружена в засушливом 2018 году.

Сухая погода лета 2018 года оказала значительное влияние и на количество следующей в пути биосинтеза капроновой кислоты. Доля этого влияния оказалось статистически значимой, несмотря на то, что составила только 11%. У многих образцов капроновая кислота не была обнаружена, а значит – легко вступала в реакцию дальнейшего удлинения углеродной цепи. В то же время влияние генотипа не было подтверждено статистически, хотя достигло 33%. Причиной этого, вероятно послужило сильное варьирование количества капроновой кислоты по годам с коэффициентом вариации, превышавшим у ряда образцов 100%. Самым стабильным по этому признаку оказался образец IDG 4101 из Чехии (к-8843). Выявление генотипов со стабильным проявлением признаков имеет принципиальное значение для селекции, так как на их основе могут быть созданы сорта, постоянно дающие высокие урожаи наилучшего качества. С другой стороны, их углубленное изучение открывает путь к пониманию генетической природы устойчивости растений к «капризам» окружающей среды.

На количество каприловой и ундециловой кислот ни генотип, ни погодные условия не оказывали статистически значимого влияния. Но высокая доля влияния неучтенных факторов (56,4% и 61,2% соответственно), а также достаточно высокий коэффициент вариации количества этих кислот, иногда достигавший 100%, видимо, говорят о сильном включении в эту долю взаимодействия генотипа с внешними условиями. Однако и в данном случае следует отметить ряд образцов, характеризующихся относительно стабильным проявлением признака и коэффициентом вариации 16%-20%. В отличие от описанных выше кислот, каприновая, лауриновая и тридециловая кислоты продемонстрировали сильную зависимость количества от погодных условий – 70,6%; 77,5% и 61,4%, соответственно, что выразилось в значительном варьировании их содержания по годам изучения:

эти кислоты тоже совсем не были обнаружены в засушливом 2018 году.

Сравнение полученных в данном опыте результатов с проанализированными ранее данными биохимического анализа аналогичного набора сортов льна, выращенных в Томской области (Pорова et al., 2021), показали их значительное совпадение по содержанию кислот, проанализированных в обоих экспериментах.

В целом можно сказать, что генотип практически не влияет на количество короткоцепочечных предельных жирных кислот. Видимо, это связано с тем, что они являются промежуточными этапами образования более крупных молекул и к моменту созревания семян в свободном состоянии их почти не остается. Кроме того, можно предположить, что мутации, нарушающие биосинтез жирных кислот на ранних этапах удлинения углеродной цепи, что теоретически могло бы привести к накоплению короткоцепочечных кислот, скорее всего, являются летальными и сразу элиминируются естественным отбором. В то же время, следует отметить, что содержание в масле этих кислот в значительной степени зависит от погодных условий и их взаимодействия с генотипами, которое, в данном случае, включается в долю влияния неучтенных факторов. Это подтверждается тем, что недостаток влаги в 2018 году, а особенно в июне, когда после цветения начинается развитие семени, видимо ускорил образование более длинноцепочечных кислот, и в ряде сортов короткоцепочечные кислоты к созреванию семян были израсходованы полностью.

Содержание в масле льна длинноцепочечных жирных кислот, начиная с миристиновой кислоты, основу которой составляют 14 атомов углерода, зависит в основном от генотипа. Исключение составляет элаидиновая кислота, являющаяся транс-изомером олеиновой кислоты. Ее образование статистически значимо зависит только от погодных условий. Количество самой олеиновой кислоты и ее изомера вакценовой кислоты в значительной степени определяется как генотипом, так и погодными условиями. Наши данные согласуются с ранее полученными результатами (Hatanaka et al., 2021). Ученые установили, что понижение температуры воздуха приводит к снижению количества олеиновой кислоты и увеличению доли линоленовой. В таблице 4 приведены результаты сравнения долей олеиновой и линоленовой кислот, содержащихся в семенах урожаев 2016-2018 годов. Сопоставление средних температур периодов от цветения до созревания семян индивидуально у каждого из изученных образцов, показал, что меньше всего олеиновой кислоты содержали семена, созревшие при самой низкой температуре, имевшей место в 2017 году. Хотя количество линоленовой кислоты по результатам дисперсионного анализа определяется почти исключительно генотипом, наши результаты показали, что на ее содержание слабо, но все же значительно влияют погодные условия. При этом больше всего ее образуется при низкой температуре воздуха. Исключение составляют низколиноленовые сорта.

Таблица 4. Средняя температура воздуха периодов цветение-созревание и содержание линоленовой и олеиновой кислот у изученных образцов в 2016-2018 годах

Table 4. Average daily temperatures during the flowering to maturity period and the linolenic and oleic acids content in the evaluated accessions in 2016-2018

Название/ Name	Средняя температура периода цветение-созревание, °C Average daily temperatures during the flowering to maturity period, °C			Содержание линоленовой кислоты (C18:3 цис-9.12.15), % Linolenic acid content, %			Содержание олеиновой кислоты (C18:1 цис-9), % Oleic acid content		
	Год/ Year	2016	2017	2018	2016	2017	2018	2016	2017
‘ВИР 1650’	19,4	18,4	19,0	52,3	60,3*	55,7	22,4	15,4*	18,3
‘Северный’	19,4	18,4	19,3	50,5	64,5*	57,5	20,7	12,1*	16,6
‘Кинельский 2000’	19,2	16,3	19,9	52,6	62,4*	56,1	19,0	13,0*	17,0
‘Воронежский 1308’	19,2	18,1	19,4	49,0	59,6*	53,7	21,0	14,9*	19,0
‘Айсберг’	19,1	18,2	19,1	54,8	63,2*	57,2	19,4	11,7*	16,4
‘Shanxi’	19,4	18,4	19,3	57,5	63,3*	59,3	15,8	11,7*	14,2
‘Walaga’	19,1	18,2	18,9	16,6*	10,6	10,4	19,5	13,3*	15,7
‘Amon’	19,5	18,2	19,8	5,5*	3,8	2,7	14,0	12,4*	15,0
‘Omega’	19,2	18,3	19,3	48,9	55,3*	47,4	19,3	14,8*	18,7
‘Исток’	19,3	18,4	19,2	5,3	7,2	7,9*	13,5	12,6*	15,2
IDG 4101	19,2	18,7	19,5	49,7	59,1*	51,7	16,8	13,0*	17,2
л-1-1 из к-6272 (‘L.Dominion’)	19,2	18,0	18,9	54,5	60,0*	56,1	18,1	12,4*	16,9
л-2 из к-6392 (‘Bolley Golden’)	19,6	18,7	18,9	57,7	64,3*	61,5	16,6	12,0*	14,0
л-1-2 из и-601679 (‘Eyre’)	19,7	18,4	20,6	6,6	4,7	7,1*	22,7	16,2*	18,1
л-1 из к-6298 (‘Minerva’, США)	19,6	18,6	18,2	55,5	61,8*	56,0	19,7	12,6*	16,6
л-1 из к-3730 (Китай)	19,4	18,4	18,8	61,8	66,4*	62,5	15,9	11,8*	15,7
л-2-3 из к-6210 (NP (RR) 38)	19,7	18,4	19,9	43,8	56,6*	48,6	22,8	14,9*	22,0
л-1 к-6608 (‘Currong’)	19,3	18,4	18,5	51,8	58,9*	53,5	23,6	14,6*	19,7
л-1 к-6634 (‘Mermilloid’)	19,1	18,4	18,4	54,7	62,9*	59,5	17,5	11,3*	14,1
№ 854, Великобритания	19,2	18,4	19,3	4,4	2,1	5,5*	22,0	16,1*	17,3

* – самое высокое содержание линоленовой кислоты и самое низкое содержание олеиновой кислоты за три года изучения/
* – the highest linolenic acid content and the lowest oleic acid content in three years of study

У всех образцов самое низкое содержание олеиновой кислоты было отмечено в 2017 году, в самую прохладную погоду. То есть, понижение температуры способствует её дальнейшей десатурации. Самое большое количество линоленовой кислоты было отмечено также в 2017 году, но только у образцов с генотипически обусловленным высоким её содержанием, то есть несущих аллели дикого типа генов *LUFAD3A* и *LUFAD3B*.

Интересные результаты были получены при анализе содержания в масле линолевой кислоты. Оказалось, что погодные условия совсем не влияют на ее количество при незначительном случайном варьировании. Эти данные

согласуется с полученными нами ранее результатами анализа состава масла такого же набора сортов льна, выращенного в Томской области (Popova et al., 2021).

Заключение

В представленной работе проанализировано влияние погодных условий Северо-Западного региона РФ на биохимический состав масла семян масличного льна. Семена 20 сортов и линий льна, которые выращивали три года подряд, были проанализированы на содержание 16 жирных кислот. Установлено, что коли-

чество масляной, каприловой, ундециловой кислот невелико и статистически значимо не зависит ни от генотипа образца, ни от условий выращивания. На долю в масле капроновой, каприновой, лауриновой, тридециловой и элаидиновой кислот в различной степени влияют только погодные условия. Синтез миристиновой, пальмитиновой, пальмитолеиновой, стеариновой, олеиновой и вакценовой кислот зависит как от генотипа, так и от условий выращивания. Количество линолевой и линоленовой кислот почти полностью зависит от генотипа. В то же время полученные результаты подтверждают утверждение других авторов о том, что повышение температуры способствует дальнейшей десатурации олеиновой кислоты до линоленовой, но только у образцов с ее высоким содержанием, то есть у тех, что характеризуются наличием аллелей дикого типа генов *LUFAD3A* и *LUFAD3B*.

References/Литература

- Banik M., Duguid S., Cloutier S. Transcript profiling and gene characterization of three fatty acid desaturase genes in high, moderate, and low linolenic acid genotypes of flax (*Linum usitatissimum* L.) and their role in linolenic acid accumulation. *Genome*. 2011;54:471-483. DOI: 10.1139/g11-013
- Brutch N.B., Porokhoviniva E.A., Shelenga T.V. Innovative possibilities for linseed breeding orientated at the different oil composition. *Achievements of Science and Technology of AIC*. 2016;30(6):5-8. [in Russian] (Брач Н.Б., Пороховинова Е.А., Шеленга Т.В. Инновационные возможности селекции масличного льна, ориентированной на различный состав масла. *Достижения науки и техники АПК*. 2016;30(6):5-8).
- Cunnane S. Metabolism and function of α -linolenic acid in humans. In: Cunnane S. *Flax seed in human nutrition*. Champaign, USA: AOCS Press; 1995. p. 99-127.
- Dar A.A., Choudhury A.R., Kancharla P.K., Arumugam N. The *FAD2* gene in plants: occurrence, regulation, and role. *Frontiers in Plant Science*. 2017;8:1789. DOI: 10.3389/fpls.2017.01789
- Durrett T.P., Benning C., Ohlrogge J. Plant triacylglycerols as feedstocks for the production of biofuels. *The Plant Journal*. 2008;54(4):593-607. DOI: 10.1111/j.1365-3113.2008.03442.x
- Fofana B., Cloutier S., Duguid S., Ching J., Rampitsch C. Gene expression of stearoyl-ACP desaturase and delta12 fatty acid desaturase 2 is modulated during seed development of flax (*Linum usitatissimum*). *Lipids*. 2006;41(7):705-712. DOI: 10.1007/s11745-006-5021-x
- Gavrilova V., Brutch N., Dubovskaya A., Konkova N., Porokhovinova E. Genetic and breeding aspects that determine the quality of seeds, oil and meal of flax, sunflower, rapeseed and camelina (Geneticheskiye i selektsionnyye aspekty, opredelyayushchiye kachestvo semyan, masla i shrota l'na, podsolnechnika, rapsa i ryzhika). In: *Oil and fat industry - 2005: factors determining the quality of oil and fat products: Materials of the 5th International conference; 2005 October 19-20; St. Petersburg, Russia*. St. Petersburg; 2005. p.20-22. [in Russian] (Гаврилова В.А., Брач Н.Б., Дубовская А.Г., Конькова Н.Г., Пороховинова Е.А. Генетические и селекционные аспекты, определяющие качество семян, масла и шрота льна, подсолнечника, рапса и рыжика. В кн.: *Масложировая индустрия – 2005: факторы, определяющие качество масложировых продуктов (Maslozhirovaya industriya – 2005: faktory, opredelyayushchiye kachestvo maslozhirovykh produktov): материалы докладов 5-ой Международной конференции; 19-20 октября 2005 г.; Санкт-Петербург, Россия*. Санкт-Петербург; 2005. С.20-22).
- Gavrilova V., Shelenga T., Porokhovinova E., Dubovskaya A., Konkova N., Grigoryev S., Podolnaya L., Konarev A., Yakusheva T., Kishlyan N., Pavlov A., Brutch N. The diversity of fatty acid composition in traditional and rare oil crops cultivated in Russia. *Biological Communications* 2020;65(1):68–81. DOI: 10.21638/spbu03.2020.106
- Green A. Genetic control of polyunsaturated fatty acid biosynthesis in flax (*Linum usitatissimum*) seed oil. *Theoretical and Applied Genetics*. 1986;72(5):654-661. DOI: 10.1007/BF00289004
- Grigoriev S.V., Illarionova K.V., Podolnaya L.P., Shelenga T.V. The use of the principal component analysis in ranking hemp (*Cannabis sativa* L.) accessions according to the seed oil fatty acid composition for crop improvement. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2023;6(4):6-13. [in Russian] (Григорьев С.В., Илларионова К.В., Подольная Л.П., Шеленга Т.В. Использование метода главных компонент в ранжировании образцов конопли посевной *Cannabis sativa* L. по жирнокислотному составу масла для ускорения селекции. *Биотехнология и селекция растений*. 2023;6(4):6-13). DOI: 10.30901/2658-6266-2023-4-02
- Hatanaka T., Yamamoto N., Araki R., Kishigami M., Nakamoto T., Masumura T., Sugimoto T. Fatty acid compositions of triacylglycerols in flax (*Linum usitatissimum* L.) seeds with varied seeding dates and nitrogen fertilization in a temperate region of Japan. *Soil science and plant nutrition* 2021;67(3):269–276. DOI: 10.1080/00380768.2021.1908093
- Khadake R.M., Ranjekar P.K., Harsulkar A.M. Cloning of a novel omega-6 desaturase from flax (*Linum usitatissimum* L.) and its functional analysis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular Biotechnology*. 2009;42(2):168-174. DOI: 10.1007/s12033-009-9150-3
- Krasowska A., Dziakowicz D., Polinceusz A., Plonka A., Lukaszewicz M. Cloning of flax oleic fatty acid desaturase and its expression in yeast. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2007;84(9):809-816. DOI: 10.1007/s11746-007-1106-9
- Kutuzova S.N., Pitko A.G. Guidelines for the study of the flax collection (*Linum usitatissimum* L.) (Metodicheskiye ukazaniya po izucheniyu kollektzii l'na (*Linum usitatissimum* L.)). Leningrad: VIR; 1988. [in Russian] (Кутузова С.Н., Питько А.Г. Методические указания по изучению коллекции льна (*Linum usitatissimum* L.)). Ленинград: ВИР; 1988).
- Menard G.N., Moreno J.M., Bryant F.M., Munoz-Azcarate O., Kelly A.A., Hassani-Pak K., Kurup S., Eastmond P.J. Genome wide analysis of fatty acid desaturation and its response to temperature. *Plant Physiology*. 2017;173(3):1594-1605. DOI: 10.1104/pp.16.01907
- Nikolau B.J., Ohlrogge J.B., Wurtele E.S. Plant biotin-containing carboxylases. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2003;414(2):211-222. DOI: 10.1016/S0003-9861(03)00156-5
- Popova G.A., Rogalskaya N.B., Knyazeva N.V., Trofimova V.M., Shelenga T.V., Porokhovinova E.A., Brutch N.B. The impact of weather conditions in different years on the biochemical composition of linseed oil. *Proceedings on applied botany, genetics and breeding*. 2021;182(3):91-100. [in Russian] (Попова Г.А., Рогальская Н.Б., Князева Н.В., Трофимова В.М., Шеленга Т.В., Пороховинова Е.А., Брач Н.Б. Влияние погодных условий разных лет на биохимический состав масла льна. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2021;182(3):91-100). DOI: 10.30901/2227-8834-2021-3-91-100
- Porokhovinova E.A., Shelenga T.V., Matveeva T.V., Pavlov A.V., Grigorieva E.A., Brutch N.B. Polymorphism of genes controlling low level of linolenic acid in lines from VIR flax genetic collection. *Ecological Genetics*. 2019;17(2):5-19. DOI: 10.17816/ecogen1725-19
- Radovanovic N., Thambugal D., Duguid S., Loewen E, Cloutier S. Functional characterization of flax fatty acid desaturase FAD2 and FAD3 isoforms expressed in yeast reveals a broad diversity in activity. *Molecular Biotechnology*, 2014;56(7):609-20. DOI: 10.1007/s12033-014-9737-1
- Rajwade A.V., Kadoo N.Y., Borikar S.P., Harsulkar A.M., Ghorpade P.B., Gupta V.S. Differential transcriptional activity of *SAD*, *FAD2* and *FAD3* desaturase genes in developing seeds of linseed contributes to varietal variation in α -linolenic acid content. *Phytochemistry*. 2014;98(2):41-53. DOI: 10.1016/j.phytochem.2013.12.002
- Somerville C.R., Browse J., Jaworski J.C., Ohlrogge J. Lipids. In: B.D. Buchanan, W. Gruissem, R.L. Jones (eds). *Biochemistry and*

- Molecular Biology of Plants*. Rockville, MD: American Society of Plant Physiologists; 2000. p.456-526.
- Tai H., Jaworski J.G. 3-Ketoacyl carrier protein synthase III from spinach (*Spinacia oleracea*) is not similar to other condensing enzymes of fatty acid synthase. *Plant Physiology*. 1993;103(4):1361-1367. DOI: 10.1104/pp.103.4.1361
- Teixeira M.C., Carvalho I.S., Brodelius M. Omega-3 fatty acid desaturase genes isolated from purslane (*Portulaca oleracea* L.): expression in different tissues and response to cold and wound stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010;58(3):1870-1877. DOI: 10.1021/jf902684v
- Teixeira M.C., Coelho N., Olsson M.E., Brodelius P.E., Carvalho I.S., Brodelius M. Molecular cloning and expression analysis of three omega-6 desaturase genes from purslane (*Portulaca oleracea* L.). *Biotechnology Letters*. 2009;31(7):1089-1101. DOI: 10.1007/s10529-009-9956-x
- Tejcklova E., Bjelkova M., Pavelek M. Medium-linolenic linseed (*Linum usitatissimum* L.) Raciol. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. 2011;47(3):128-130. DOI: 10.17221/96/2011-CJGPB
- Thambugala D., Cloutier S. Fatty acid composition and desaturase gene expression in flax (*Linum usitatissimum* L.). *Journal of Applied Genetics*. 2014;55(4):423-432. DOI: 10.1007/s13353-014-0222-0
- Thambugala D., Duguid S., Loewen E., Rowland G., Booker H., You F.M., Cloutier S. Genetic variation of six desaturase genes in flax and their impact on fatty acid composition. *Theoretical and Applied Genetics*. 2013;126(10):2627-2641. DOI: 10.1007/s00122-013-2161-2
- Vega S.E., del Rio A.H., Bamberg J.B., Palta J.P. Evidence for the up-regulation of stearoyl-ACP ($\Delta 9$) desaturase gene expression during cold acclimation. *American Journal of Potato Research*. 2004;81(2):125-135. DOI: 10.1007/BF02853610
- Vrinten P, Hu Z., Munchinsky M.A., Rowland G., Qiu X. Two *FAD₃* desaturase genes control the level of linolenic acid in flax seed. *Plant Physiology*. 2005;139(1):79-87. DOI: 10.1104/pp.105.064451
- You F., Li P., Kumar S., Ragupathy R., Li Z., Fu Y., Cloutier S. Genome-wide identification and characterization of the gene families controlling fatty acid biosynthesis in flax (*Linum usitatissimum* L.). *Journal of Proteomics Bioinformatics*. 2014;7:310-326. DOI: 10.4172/jpb.1000334

Информация об авторах

Нина Борисовна Брutch, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий, Отдел генетических ресурсов масличных и прядильных культур, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, n.brutch@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2253-6263>

Владимир Вячеславович Васипов, аспирант, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, vl.vasipov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3829-7714>

Андрей Валерьевич Павлов, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, Отдел генетических ресурсов масличных и прядильных культур, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, avpavlov77@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5098-4904>

Татьяна Васильевна Шеленга, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, отдел биохимии и молекулярной биологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, tatianashelenga@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3992-5353>

Information about the authors

Nina B. Brutch, Dr. Sci (Biology), Chief Researcher, Head, Department of Oil and Fiber Crop Genetic Resources, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, n.brutch@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2253-6263>

Valdimir V. Vasipov, postgraduate student, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, vl.vasipov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3829-7714>

Andrey V. Pavlov, Cand. Sci (Agriculture), Senior Researcher, Department of Oil and Fiber Crop Genetic Resources, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, avpavlov77@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5098-4904>

Tatiana V. Shelenga, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Department of Biochemistry and Molecular Biology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, tatianashelenga@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3992-5353>

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 05.11.2024; одобрена после рецензирования 12.12.2024; принята к публикации 27.12.2024.

The article was submitted on 05.11.2024; approved after reviewing on 12.12.2024; accepted for publication on 27.12.2024.

Обзорная статья
УДК 634.75:631.52
DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-04



Гены-кандидаты, контролирурующие вкусовые качества плодов земляники садовой (*Fragaria × ananassa* Duch.)

К. М. Межина, Н. Г. Тихонова

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

Автор, ответственный за переписку: Ксения Максимовна Межина, k.mezhina@vir.nw.ru

Земляника (*Fragaria* L.) является одной из коммерчески ценных ягодных культур. Ягоды земляники ценятся за свой привлекательный вид и питательную ценность, являются низкокалорийным продуктом и обладают низким гликемическим индексом. В промышленном производстве предпочтения отдают сортам, отличающимся хорошей устойчивостью к ряду патогенов, высокой урожайностью и транспортабельностью. Однако, вероятно в результате селекции, направленной на улучшение этих и других признаков, большинство промышленных сортов утратили свои вкусовые качества. Создание сортов с использованием традиционных методов селекции требует значительных временных и финансовых затрат. Применение методов ускоренной селекции с целью улучшения вкусовых качеств плодов земляники является одним из перспективных направлений. На первых этапах работы по ускорению селекции необходим поиск генов-кандидатов, регулирующих те или иные качества. На сегодняшний день известно в общей сложности свыше 2000 летучих ароматических компонентов у различных плодовых культур. К компонентам, регулирующим сахаро-кислотный индекс, относятся сахара и органические кислоты. В обзоре рассмотрена группа генов, в том числе семейство генов SWEET, которые регулируют перенос сахаров из листьев в плоды у целого ряда культур. Рассмотрены гены, участвующие в биосинтезе сахаров, связанные с накоплением яблочной кислоты у плодовых, лимонной кислоты в плодах цитрусовых, а также гены, регулирующие основные вкусовые качества плодов и ягод. Ключевыми генами регуляции аромата у плодов земляники являются *FaOMT*, *FaFAD1*, *FanAAMT*. Регуляция уровня сахарозы происходит под действием генов *FaSPS*, *FaPHSI*, *FaSuc11*, *FaSUSY*, глюкозы – *FaGlu8*, *FaGlu3*, а фруктозы – *FaFRU*. Содержание лимонной кислоты регулирует ген *FaMYB5*, аскорбиновой кислоты – гены *FaAKR23* и *FaGalUR*.

Ключевые слова: *Fragaria × ananassa*, гены, вкус, аромат, сладость, кислотность

Благодарности: Статья подготовлена в рамках государственного задания ВИР согласно тематическому плану НИР по теме № FGEM-2022-0011 «Разработка подходов ускоренной селекции для улучшения хозяйственно ценных признаков декоративных и ягодных культур».

Для цитирования: Межина К.М., Тихонова Н.Г. Гены-кандидаты, контролирующие вкусовые качества плодов земляники садовой (*Fragaria × ananassa* Duch.). *Биотехнология и селекция растений*. 2024;7(4):18-30. DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-04

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

© Межина К.М., Тихонова Н.Г., 2024

Review article

DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-04

Candidate genes controlling the taste qualities of garden strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) fruits

Ksenya M. Mezhdina, Nadezhda G. Tikhonova

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

Corresponding author: Ksenya M. Mezhdina, k.mezhdina@vir.nw.ru

Strawberry (*Fragaria* L.) is one of the commercially valuable berry crops. Strawberries are valued for their attractive appearance and nutritional value, are a low-calorie product and have a low glycemic index. In the industrial production, preference is given to cultivars distinguished by good resistance to pathogens, high yield and transportability. However, probably as a result of breeding aimed at improving these and other characteristics, most industrial cultivars have lost their taste qualities. The use of accelerated breeding methods to improve the taste of strawberry fruits is one of the promising areas. At the first stages of work to accelerate breeding, it is necessary to search for candidate genes that regulate certain qualities. To date, a total of over 2,000 volatile aromatic compounds are known in various fruit crops. The components regulating the sugar-acid index include sugars and organic acids. The review examines a group of genes, including the SWEET gene family, which regulate the transfer of sugars from leaves to fruits in a number of crops. The genes involved in the biosynthesis of sugars, associated with the accumulation of malic acid in fruit trees, citric acid in citrus fruits, as well as genes regulating the basic taste qualities of fruits and berries are considered. The key genes for flavor regulation in strawberry fruits are *FaOMT*, *FaFAD1*, and *FanAAMT*. The regulation of sucrose levels is influenced by the *FaSPS*, *FaPHSI*, *FaSUC11*, and *FaSUSY* genes, of glucose by *FaGlu8* and *FaGlu3*, and of fructose by *FaFRU*. The content of citric acid is regulated by the *FaMYB5* gene, while that of ascorbic acid is regulated by *FaAKR23* and *FaGalUR*.

Key words: *Fragaria × ananassa*, genes, taste, aroma, sweetness, acidity

Acknowledgements: The article was prepared as part of the State Assignment to VIR in accordance with the R&D Thematic Plan Topic No. FGEM-2022-0011 «Development of accelerated breeding approaches to improve the economically valuable properties of ornamental and berry crops».

For citation: Mezhdina K.M., Tikhonova N.G. Candidate genes controlling the taste qualities of garden strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) fruits. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2024;7(4):18-30. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-04

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

© Mezhdina K.M., Tikhonova N.G., 2024

Введение

Удовлетворение потребностей человека в качественных и полезных фруктах и ягодах является одной из первоочередных задач селекционных программ по созданию сортов с заданными свойствами. Потребление человеком ягод, фруктов и овощей дает положительный эффект: снижается риск заболеваний сердечно-сосудистой системы и некоторых видов рака. Одной из основных ягодных культур, выращиваемых во многих странах мира, является земляника. Ягоды земляники имеют привлекательный вид, высокую питательную ценность, характеризуются низкой калорийностью, обладают низким гликемическим индексом (Crespo et al., 2010; Newerli-Guz et al., 2023). По сроку созревания ягод земляники является одной из первых плодово-ягодных культур, уступая только жимолости (Samarokova, Kirichenko, 2023). В ягодах земляники содержатся сахара, кислоты, витамины групп В, Е, Р, а также витамин С. Кроме того, ягоды земляники содержат такие вещества как каротин, флавоноиды, в первую очередь представленные антоцианами, макроэлементы и микроэлементы, среди которых магний, калий, фосфор, йод и кальций (Yeliseyeva et al., 2015). Концентрация веществ может изменяться в зависимости от агротехники выращивания (Doev et al., 2019). Все свойства свежих ягод можно разделить на несколько подгрупп: физические (консистенция, размер и форма плодов), химические (содержание питательных веществ) и вкусовые (аромат, сладость, кислотность) (Arifova, 2019). Плоды земляники потребляются как в свежем, так и в переработанном виде. Сорта, пригодные для употребления в разных видах, являются универсальными и коммерчески более значимыми.

Земляника *Fragaria* L. – многолетнее травянистое растение, относящееся к семейству Rosaceae Juss. Род *Fragaria*, по разным источникам, включает в себя свыше 30 видов. На территории России встречается семь видов земляники (Samarokova, Kirichenko, 2023).

Промышленное значение имеет земляника садовая (*Fragaria* × *ananassa* Duch.). Впервые этот вид был описан ботаником Антуаном Николая Дюшеном (Liston et al., 2014). Вид *F.* × *ananassa* является межвидовым гибридом, возникшим спонтанно в результате гибридизации в XVIII веке между двумя октоплоидными американскими видами – земляникой чилийской (*F. chiloensis* L.) и земляникой виргинской (*F. virginiana* Duch.) (Baturin, Kuznetsova, 2010). Данный вид является октоплоидом ($2n=8x=56$) с размером генома 690-780 мегаоснований (Mezhnina, Urbanovich, 2016; Lyzhin, Luk'yanchuk, 2019; Vondracek et al., 2024). Земляника лесная (*F. vesca* L.) является модельным объектом для генетических исследований, так как имеет диплоидный набор хромосом и небольшой размер генома около 240 мегаоснований. Вид *F. vesca* стал первым в роде *Fragaria*, у которого в 2010 году был секвенирован геном (Shulaev et al., 2011). На сегодняшний день в список общедоступных сборок генома вклю-

чены несколько видов земляники: *F. nilgerrensis* (Schltdl. ex J.Gay) Mabb., *F. pentaphylla* Losinsk., *F. manschurica* Rupr., *F. daltoniana* J.Gay, *F. viridis* Weston, *F. inumae* Makino, *F. nubicola* Lindl. ex Lacaita, *F. orientalis* Lipsky, *F. bucharica* Losinsk., *F. nipponica* Makino, *F. vesca* L., *F. chiloensis* L., *F. virginiana* Mill., *F.* × *ananassa* Duch. Секвенированы геномы восьми сортов *F.* × *ananassa*: в 2021 году – ‘Reikow’, ‘Royal Royce’, ‘Wongyo 3115’, в 2022 – ‘Florida Brilliance’, ‘F1 15.89-25’, в 2023 – ‘Yanli’, ‘Benihoppe’. Сорт ‘Camarosa’ имеет две версии сборки: 2019 и 2021 годов (Vondracek et al., 2024).

Землянику садовую культивируют почти по всему миру: в странах Европы, Азии, Австралии, Америки и Африки, что связано с пищевой ценностью ягод и высокой экономической эффективностью. Общая мировая площадь культивирования земляники по данным FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAOSTAT, 2024) в 2022 году составила более 423 тыс. га с валовым объемом производства свыше 10,2 млн тонн. Странами-лидерами, по площадям возделывания, являются Китай (147 тыс. га), Российская Федерация (38 тыс. га) и Польша (31 тыс. га). По объему производства лидируют Китай (3981 тыс. т), США (1293 тыс. т) и Турция (728 тыс. т). На территории России основные площади под земляникой располагаются в Центральном, Центрально-Черноземном, Северо-Кавказском и Северо-Западном регионах. На 2024 год в Госреестр селекционных достижений РФ (State Register..., 2024) включено свыше 130 образцов земляники, большинство из которых (85%) созданы селекционерами РФ (рис. 1).

Первый сорт российской селекции зарегистрирован в 1959 году. Вплоть до 2007 года сортимент земляники в Госреестре селекционных достижений составляли сорта только Российской селекции. В последнее время увеличилось число зарегистрированных сортов иностранной селекции, выделяющихся урожайностью, устойчивостью к патогенам и транспортабельностью (Ulrich, Olbricht, 2016).

Россия занимает одно из лидирующих мест по площадям возделывания земляники, но по урожайности уступает другим странам. Это в первую очередь связано с существующим сортиментом и технологиями выращивания. Долгое время селекция земляники была направлена на повышение устойчивости к различного рода патогенам, засухо- и морозостойчивости, а также на улучшение транспортабельности ягод. Вместе с тем большинство современных коммерчески важных сортов утратили свои десертные качества (Olbricht et al., 2008; Ulrich, Olbricht, 2016). Особое значение в оценке десертных свойств имеет генотип, возраст растения и регион возделывания (Crespo et al., 2010). Создание универсальных по назначению сортов с улучшенными вкусовыми качествами и высокой конкурентной способностью по отношению к сортам, созданным европейскими селекционерами, является первоочередной задачей сегодняшних направлений в селекции. Методы традиционной селекции зани-

Число сортов Российской и иностранной селекции, включенных в Госреестр селекционных достижений РФ

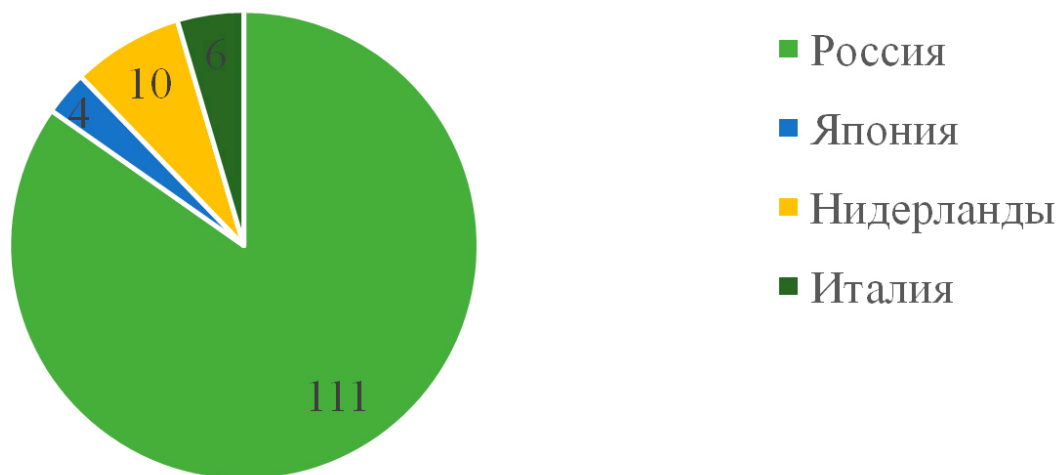


Рис. 1. Распределение стран-оригинаторов сортов, включенных в Госреестр селекционных достижений.

Fig. 1. Distribution of the countries from which cultivars included in the State Register of Selection Achievements originated.

мают достаточно продолжительное время, что влечет за собой значительные финансовые затраты. На сегодняшний день на помощь им приходят технологии ускоренной селекции. Одним из таких современных методов является технология направленного мутагенеза CRISPR (Clustered Regular Interspaced Short Palindromic Repeats) Использование данного метода уже дало результаты в области редактирования геномов у таких культур как арабидопсис (*Arabidopsis thaliana* L.), кукуруза (*Zea mays* L.), табак (*Nicotiana* L.), ячмень (*Hordeum vulgare* L.), яблоня (*Malus domestica* Borkh), виноград (*Vitis vinifera* L), груша (*Pyrus communis* L), банан (*Musa acuminata* Colla), киви (*Actinidia deliciosa* (A. Chev.) C.F. Liang & A.R. Ferguson), грейпфрут (*Citrus paradisi* Macfad.), апельсин (*Citrus × sinensis*), слива (*Prunus domestica* L.) (Khlestkina, Shumny, 2016; Tikhonova, Khlestkina, 2019; Rakhmangulov, 2022; Rakhmangulov et al, 2022; Ukhatova et al., 2023; Akter et al., 2024). Известны также работы по редактированию генома земляники. С использованием инструментов геномики и транскриптомики были проведены исследования генов, ассоциированных с такими хозяйственно-ценными признаками, как устойчивость к патогенам, созревание и твердость плодов, аромат, цвет и размер плодов (Zhang et al., 2023; Akter et al., 2024; Vondracek et al., 2024).

В настоящем обзоре обобщена актуальная информация о генах-кандидатах, регулирующих вкусовые каче-

ства плодов земляники.

Десертные качества плодов земляники определяются несколькими показателями: вкусом, формой, размером и цветом ягод, их консистенцией и плотностью (Conti et al., 2014). В настоящем обзоре мы рассмотрим вкус ягод, который у различных плодовых культур определяется ароматом и величиной сахарокислотного индекса (таблица 1).

Ароматические качества плодов. Аромат плодов обусловлен наличием летучих ароматобразующих веществ, в число которых входят простые и сложные эфиры, кетоны, терпены, фураноны, альдегиды, спирты и серосодержащие соединения. На сегодняшний день известно, в общей сложности, свыше 2000 летучих ароматических компонентов из различных растительных объектов, включая такие культуры, как яблоня (*M. domestica* (Borkh.)), виноград (*V. vinifera* L.), киви (*A. chinensis* var. *deliciosa* (A.Chev.)), груша *P. ussuriensis* Maxim., персик (*P. persica* L.), абрикос (*P. armeniaca* L.), земляника (*F. × ananassa* Duch.), апельсин (*C. × sinensis* L.), и другие плодовые культуры (Gilbert et al., 1996; Eduardo et al., 2010; Liu W. et al., 2022; Wang Q. et al., 2022; Li X. et al., 2023a;b). Так у яблони известно свыше 300 ароматических летучих соединений (Liu W. et al., 2022). Идентифицированы гены нескольких ферментов, которые име-

Таблица 1. Гены, регулирующие основные вкусовые качества плодов различных плодовых культур

Table 1. Genes regulating the main taste qualities of fruits of various fruit crops

Ген / Gene	Вид / Species	Функция / Function	Источник / Reference
Ароматические вещества			
<i>CsAAT1</i>	Апельсин <i>Citrus × sinensis</i> (L.) Osbeck	Накопление ароматических веществ	Fan et al., 2024
<i>PpFAD1B_6, PpLOX1, PpLOX2, PpLOX3, PpLOX4, PpEPH2, PpEPH3, PpTPS1, PpHPL1, PpFAD4, PpFAD1, PpAAT</i>	Персик <i>Prunus persica</i> L.		Li X. et al, 2023a;b
<i>PuAAT1, PuCXE</i>	Груша <i>Pyrus ussuriensis</i> Maxim		Qi et al, 2024
<i>AdAFS1, AdGDS, AaLS1, ApLS1, AcNES1, PuAAT1, PuCXE</i>	Киви <i>Actinidia chinensis</i> var. <i>deliciosa</i> A.Chev.		Wang W. et al., 2023
<i>MdLOX1, MdAAT1, MdAAT2, MdADH1, MdADH2</i>	Яблоня домашняя <i>Malus domestica</i> Borkh.		Echeverria et al., 2004; Dunemann et al., 2012; Schiller et al., 2015
<i>VvCYP, VvSDR, VvCCR, VvADH, VvDXS, VvTPS</i>	Виноград культурный <i>Vitis vinifera</i> L.		Li Y. et al., 2023
<i>FaNES1, FaQR, SAAT, FaAAT2, FaOMT, FaFAD1, FaAAMT</i>	Земляника садовая <i>Fragaria × ananassa</i> Duch.		Zorrilla-Fontanesi et al., 2012; Sánchez-Sevilla et al., 2014, Fu et al., 2017; Lyzhin et al., 2020; Oh et al., 2021; Barbey et al., 2021; Urrutia et al., 2023
Сахара			
<i>CmTST2</i>	Дыня <i>Cucumis melo</i> L.	Транспорт сахаров	Durán-Soria et al., 2020
<i>PpSUT2, PpVGT1, PpVGT2</i>	Персик <i>Prunus persica</i> L.	Транспорт сахаров	Aslam et al., 2019;
<i>SWEET10, STP13, STP5.1, STP5.2</i>	Абрикос <i>Prunus armeniaca</i> L.	Транспортеры сахарозы	Zhang et al., 2019
<i>MdSUT1, MdSUT2, MdSUT4, MdTMT1</i>	Яблоня <i>Malus domestica</i> Borkh.		Fan et al., 2009; Zhen et al., 2018; Peng et al., 2020; Xu et al., 2020
<i>VvSUC11, VvSUC12</i>	Виноград культурный <i>Vitis vinifera</i> L.		Du et al., 2024
<i>VvSnRK1.1, VvSnRK1.2, VvTPP, VvCWINV, VvHXK</i>	Виноград культурный <i>Vitis vinifera</i> L.		Du et al., 2024
<i>PpSS, PpMGAM, PpINV, PpFRK, PpHXK</i>	Персик <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch	Регуляция сахаров	Aslam et al., 2019; Wang L. et al., 2023
<i>SuS2, PuSWEET15</i>	Киви <i>Actinidia chinensis</i> var. <i>deliciosa</i> (A.Chev.)		Du et al., 2024
<i>SPS2, SUS1a, SUS1b</i>	Абрикос <i>Prunus armeniaca</i> L.	Регуляция уровня сахаров	Aslam et al., 2019
<i>FaSPS, FaPHS1, FaSuc11, FaSUSY</i>	Земляника садовая <i>Fragaria × ananassa</i> Duch.	Регуляция уровня сахарозы	Tian et al., 2012; Shanmugam et al., 2017; Lee et al., 2018; Peng et al., 2020
<i>PpSPS4, PpSPS2</i>	Персик <i>Prunus persica</i> (L.)	Накопление сахарозы в цитозоле	Aslam et al., 2019;
<i>PpTMT1, PpTMT2</i>	Персик <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch	Транспортеры моносахаридов тонопластов	Aslam et al., 2019

Ген / Gene	Вид / Species	Функция / Function	Источник / Reference
<i>MdVGT1</i>	Яблоня домашняя <i>Malus domestica</i> (Suckow) Borkh.	Транспорт глюкозы	Zhu et al., 2022
<i>FaGlu8, FaGlu3</i>	Земляника садовая <i>Fragaria × ananassa</i> Duch.	Регуляция уровня глюкозы	Shanmugam et al., 2017
<i>FaFRU</i>	Земляника садовая <i>Fragaria × ananassa</i> Duch.	Регуляция уровня фруктозы	Shanmugam et al., 2017
<i>PpVAINV2</i>	Персик <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch	Расщепление сахарозы	Aslam et al., 2019
<i>PcSOT1, PcSOT2</i>	Вишня <i>Prunus subgen. Cerasus</i> (Mill.)	Транспортёры сорбитола	Du et al., 2024
Органические кислоты			
<i>MdWRKY126, MdMa12</i>	Яблоня домашняя <i>Malus domestica</i> Borkh.	Накопление малата	Zhang et al., 2022
<i>CrMYB73</i>	Мандарин <i>Citrus reticulata</i> Blanco	Синтез лимонной кислоты	Li et al., 2015
<i>FaMYB5</i>	Земляника садовая <i>Fragaria × ananassa</i> Duch.		Liu Y. et al., 2022
<i>FaGalUR</i>	Земляника садовая <i>Fragaria × ananassa</i> Duch.	Синтез аскорбиновой кислоты	Liu H. et al., 2022
<i>FaAKR23</i>	Земляника садовая <i>Fragaria × ananassa</i> Duch.	Регулятор синтеза аскорбиновой кислоты	Wei et al., 2022

ют ключевое значение в синтезе ароматобразующих веществ – *MdLOX1* (липоксигеназа), *MdAAT1* и *MdAAT2* (ацилтрансфераза алкоголя), *MdADH1* и *MdADH2* (алкогольдегидрогеназы) (Echeverria et al., 2004; Li et al., 2006; Dunemann et al., 2012; Schiller et al., 2015).

У винограда аромат можно разделить на мускатный, клубничный и нейтральный. Всего у винограда идентифицировано свыше 215 ароматических соединений, среди которых 88 сложных эфиров, 64 терпена и 29 спиртов. Содержание ароматических соединений, в большей степени терпенов, различно в мякоти и кожуре. Синтез и накопление ароматобразующих летучих веществ регулируют свыше 20 генов, среди которых *VvCYP*, *VvSDR*, *VvCCR*, *VvADH*, участвующие в пути синтеза фенилпропаноидов, и *VvDXS*, *VvTPS* – в пути синтеза метилэритритфосфата. Основными генами регуляции накопления ароматических веществ в плодах винограда, по мнению исследователей, являются: *VvBGLU* и *VvUGT* (Li Y. et al., 2023).

В плодах киви обнаружено свыше 300 ароматических компонентов (Li Y. et al., 2023). Особая роль в плодах киви отводится генам терпенсинтаз, среди которых *AdAFSI* (α -фарнезенсинтаза), *AdGDS* (гермакрен-D-синтаза), *AaLSI* и *ApLSI* (линалоолсинтаза), *AcNESI* (неролидолсинтаза), регулирующие различные летучие вещества (Wang W. et al., 2023).

В плодах груши обнаружено более 120 ароматических веществ, представленных сложными эфирами (пропилацетат, этилацетат и другие), альдегидами (гексаналь, нонанал и другие), спиртами (этанол, пропанол и другие), алканами (гексадекан и другие), олефинами (альфа-фарны) и другими. На увеличение содержания слож-

ных эфирных ароматических соединений оказывает влияние жасмоновая кислота, стимулируя экспрессию гена *PuAAT1* (алкилтрансфераза) и подавляя экспрессию гена *PuCXE* (карбоксилэстераза) (Qi et al., 2024).

В плодах персика было обнаружено более 100 ароматических соединений. Однако, только 20 из идентифицированных соединений являются ключевыми в ароматическом комплексе (Li X. et al., 2023b). Разные источники утверждают, что возможно γ -декалактон и δ -декалактон являются наиболее значимыми веществами в формировании аромата плодов персика (Li Y. et al., 2023; Li X. et al., 2023a). В настоящий момент пути биосинтеза лактонов требуют дополнительного изучения, однако подтверждено, что образование лактонов регулируется геном *PpFAD1B 6*. Определены десятки генов, ассоциированных с ароматом плодов персика, среди которых присутствуют *PpLOX1- PpLOX4*, *PpEPH2*, *PpEPH3*, *PpTPS1*, *PpHPL1*, *PpFAD4*, *PpFAD1* и *PpAAT* (Li X. et al., 2023a).

В плодах черешни идентифицировано 39 летучих соединений, которые представлены в большей степени такими группами, как альдегиды, кетоны, спирты и сложные эфиры (Villavicencio et al., 2021).

В плодах апельсина известно 60 летучих соединений, синтез которых находится под контролем 93 генов. Исследования показали, что ген *CsAAT1* (алкогольная ацилтрансфераза 1) контролирует выработку сложных эфиров, оказывая влияние на аромат (Fan et al., 2024).

У земляники лесной (*F. vesca*) к настоящему времени выявлено 360 летучих веществ (Aharoni et al., 2004). Вид *F. × ananassa* имеет значительно меньше зарегистрированных соединений, дающих аромат плодам – около 280 (Fan et al., 2021). Из большого разнообразия ароматиче-

ских соединений всего лишь около 20 зарегистрированы как особые для восприятия (Olbricht et al., 2008).

В последнее десятилетие открыты десятки генов, которые регулируют накопление летучих веществ в плодах земляники, среди которых *FaNESI* (неролидолсинтаза 1), *FaQR* (хиноноксидоредуктаза), *SAAT* (ацилтрансфераза клубничного спирта), *FaAAT2* (алкогольацилтрансфераза), *FaOMT* (О-метилтрансфераза), *FaFAD1* (десатураза жирных кислот), *FanAAMT* (метилтрансфераза антралиловой кислоты) (Zorrilla-Fontanesi et al., 2012; Sánchez-Sevilla et al., 2014; Fu et al., 2017; Lyzhin et al., 2020; Barbey et al., 2021; Oh et al., 2021; Urrutia et al., 2023).

К числу важнейших генов, регулирующих аромат плодов земляники относятся: *FaOMT*, *FaFAD1*, *FanAAMT* (Lyzhin, Luk'yanchuk, 2021). Приятные фруктовые ноты аромату плодов земляники придает соединение мезифуран, который контролируется геном *FaOMT* (Zorrilla-Fontanesi et al., 2012; Lyzhin et al., 2020). Наличие персикоподобного сладкого аромата в плодах обусловлено наличием γ -декалктона, который ассоциирован с геном *FaFAD1* (Lyzhin et al., 2020; Oh et al., 2021; De Mori, Cipriani, 2023). В аромате плодов земляники также иногда прослеживаются приятные виноградные ноты, накопление которых обусловлено высоким содержанием метилантралилата, при высоком уровне экспрессии гена *FanAAMT*.

Сахаро-кислотный индекс плодовых культур. Вкусовое восприятие плодов сильно зависит от сочетания сахаров и органических кислот, выражаемого в виде сахаро-кислотного индекса (Ufimtseva et al., 2020). Считается, чем выше сахаро-кислотный индекс, тем вкуснее продукт (Machulkina et al., 2020). По некоторым данным, оптимальное значение сахарокислотного индекса варьирует в пределах 6-8 (Podorozhnyi, Gorelikova, 2014).

Содержание сахаров. У большинства плодовых культур основными сахарами в плодах являются сахароза, фруктоза и глюкоза, реже сорбит (Prichko, Germanova, 2011). Разные виды сахара по-разному влияют на сладость (Ma et al., 2024).

Концентрация сахаров у плодовых и ягодных культур увеличивается по мере созревания плодов, достигая своего максимума в спелых ягодах (Lee et al., 2018). В переспелых ягодах уровень содержания сахаров падает (Нарова et al., 2009). Образование сахаров происходит в листьях в процессе фотосинтеза с дальнейшей их транспортировкой в плоды (Ren et al., 2023). В большинстве случаев транспорт сахаров происходит в виде сахарозы и сорбита. При подходящих условиях, транспортированные сахара могут превращаться в глюкозу и фруктозу (рис. 2) (Ma et al., 2024).

Некоторые исследователи делят известные гены, регулирующие сладость плодов, на несколько групп, в зависимости от функций контролируемых ими белков: 1 – транспортеры сахаров, 2 – связанные гексозами; 3 – связанные

с синтезом сахарозы и 4 – участвующие в разложении сахаров (Lee et al., 2018).

Особое внимание современные исследователи уделяют группе генов, от которых зависит перенос сахаров из листьев в плоды. Множество исследований посвящено семейству генов-транспортеров SWEET (Sugar Will Eventually be Exported Transporters). Впервые SWEET было обнаружено у *Arabidopsis thaliana* L. в качестве унипортера глюкозы. Помимо арабидопсиса, семейство SWEET было идентифицировано у многих растений, таких как томат *Solanum lycopersicum* L., огурец *Cucumis sativus* L., виноград *V. vinifera* L., яблоня *M. domestica* L., апельсин *C. × sinensis* L., груша *P. ussuriensis* Maxim., соя *Glycine max* L., рапс *Brassica napus* L., сорго *Sorghum bicolor* (L.) Moench, кукуруза *Z. mays* L. и черешня *Prunus avium* L. (Liu et al., 2019).

В плодах яблони регуляция сахаров осуществляется различными генами транспорта сахарозы (*MdSUT1*, *MdSUT2* и *MdSUT4*), моносахаридов (*MdTMT1*), глюкозы (*MdVGT1*) и несколькими генами *MdSWEET* (Fan et al., 2009; Zhen et al., 2018; Peng et al., 2020; Xu et al., 2020). Однако, вопрос синтеза, метаболизма и транспорта сахаров в плодах яблони до недавнего времени не был полностью изучен (Liu W. et al., 2022).

В плодах груши накопление сахаров в зрелых плодах происходит под действием гена *SuS2*. В плазматической мембране выявлен ген *PuSWEET15*, имеющий высокий уровень экспрессии на всех стадиях развития плода, который способствует накоплению сахарозы. Существует вероятность, что ген *PbSOT2* может служить транспортером сорбита (Du et al., 2024).

В путях метаболизма сахаров в плодах персика идентифицировано несколько функциональных генов, среди которых: *PpSS* (сахарозосинтаза), *PpMGAM* (альфа-глюкозидаза), *PpINV* (инвертаза), *PpFRK* (фруктокиназа), и *PpHXK* (гексокиназа) (Wang L. et al., 2023). Известно, что сахароза накапливается в цитозоле при участии генов *PpSPS4* и *PpSPS2* (сахарозофосфатсинтазы), затем импортируется в вакуоль под действием генов *PpSUT2* (транспортер сахарозы), *PpVGT1*, *PpVGT2*, *PpVGT2* (вакулярные транспортеры сахарозы), *PpTMT1* и *PpTMT2* (транспортер моносахаридов тонопластов) и под действием *PpVAINV2* (инвертаза) расщепляется (Aslam et al., 2019).

В плодах абрикоса основным сахаром является сахароза, составляющая около 60% от общего числа растворимых сахаров. Определены гены, имеющие высокий уровень экспрессии во время созревания плодов – *SPS2* (сахарозофосфатсинтаза), *SUS1a*, *SUS1b* (сахарозосинтазы) и имеющие низкий уровень экспрессии: *Ivr1*-подобные, *Ivr1* (нейтральные инвертазы). Ген *SWEET10* также имел высокий уровень экспрессии во время созревания плодов. Дополнительно было отмечено повышение уровня экспрессии у генов-переносчиков сахаров *STP13* и *STP5.1*, *STP5.2* (Zhang et al., 2023).

В плодах дыни наиболее значимую ассоциацию

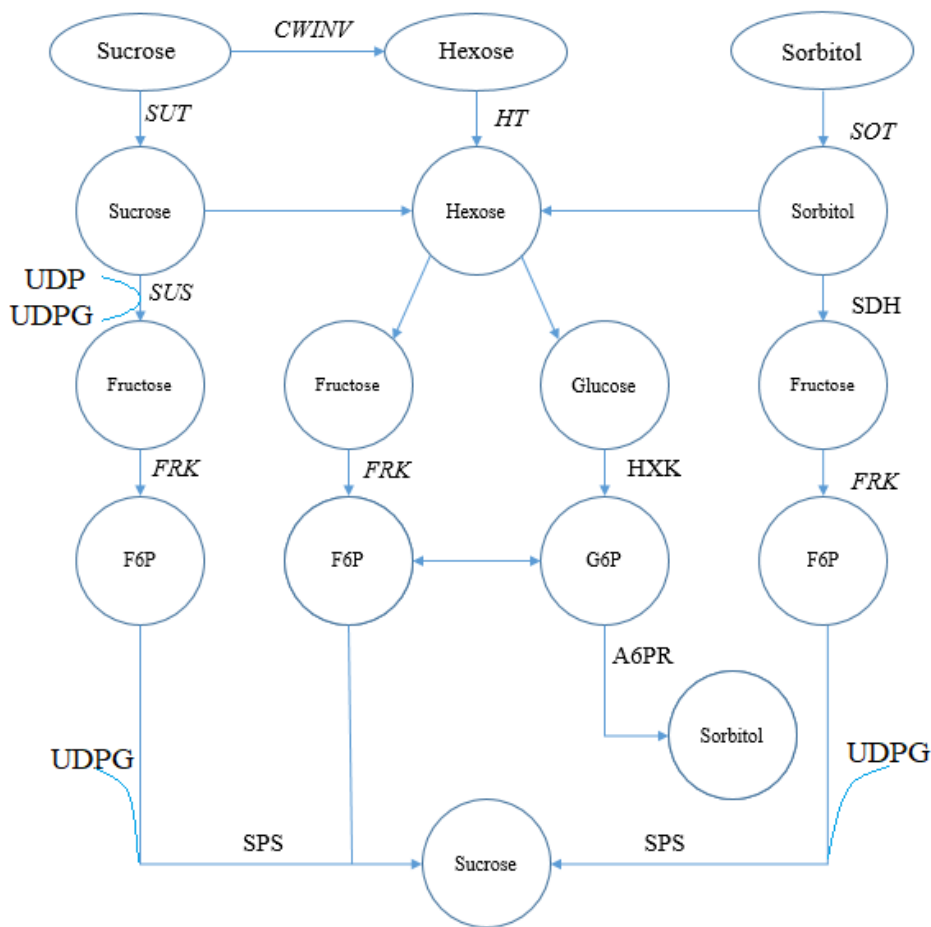


Рис. 2. Основные пути биосинтеза сахара в плодах (по Du et al., 2024).

Fig. 2. The main ways of sugar biosynthesis in fruits (according to Du et al., 2024)

с содержанием сахара имеет ген *CmTST2* (тонопластный транспортер сахара), регулирующий транспорт сахаров (Durán-Soria et al., 2020).

В плодах черешни преобладают моносахара и в незначительном количестве присутствует сахароза. Поэтому черешня рекомендована для использования в диетическом питании. Выявлены два гена *PcSOT1* и *PcSOT2* – гены транспортеров сорбитола, ассоциированные с накоплением сорбита в плодах (Du et al., 2024).

У винограда активность гена *HXK* (гексокиназа) на начальных стадиях приводила к низким уровням содержания гексоз, однако по мере созревания плодов экспрессия падала, что приводило к повышению уровня гексоз. Два гена – *SUT-VvSUC11* и *VvSUC12* – были определены как ключевые регуляторы в транспорте сахарозы. Ген *VvWRKY22* снижал концентрацию сахарозы, фруктозы и глюкозы в плодах, усиливая экспрессию генов, связанных с синтезом сахаров *VvSnRK1.1*, *VvSnRK1.2* (протеин-

киназа), *VvTPP* (трегалоза-6-фосфат фосфатаза), *VvCWINV* (инвертаза клеточной стенки) и *VvHXK* (гексокиназа) (Du et al., 2024).

Некоторые исследователи считают, что наибольший вклад в сладость плодов земляники вносят глюкоза и фруктоза (Нарова et al., 2009). Однако, есть исследования, которые показывают, что именно сахароза является основным сахаром в плодах земляники (Liu et al., 2023). Распределение сахаров по мякоти плода земляники происходит неравномерно. Больше всего сахаров содержится в верхней части плода, и меньше всего в плодоножке (Newerli-Guz et al., 2023). Ключевыми генами, регулирующими уровни сахарозы, являются *FaSPS* (сахарозо-фосфатсинтаза), *FaPHS1* (альфа-глюкан-фосфорилаза), *FaSUC11* (галактинол-сахарозо-галактозилтрансфераза), *FaSUSY* (сахарозосинтаза); глюкозы – *FaGlu8* (цитозольный глюкозофосфат), *FaGlu3* (хлоропласто-подобный глюкозо-6-фосфат фосфатный транслокатор). На концен-

трацию фруктозы оказывает влияние ген *FaFRU3* (глютамин-фруктозо-6-фосфатаминотрансфераза). Известно, что гены *FaSPS*, *FaSUC11* и *FaPHSI* участвуют в синтезе сахарозы, а *FaSUSY* в распаде сахарозы. В литературе разделение генов накопления глюкозы и фруктозы по группам не встречалось (Shanmugam et al., 2017; Lee et al., 2018).

Помимо сахаров, на вкусовые качества плодов влияют органические кислоты. В различных культурах преобладают разные органические кислоты (Alabd et al., 2024). У большинства плодовых культур основными органическими кислотами являются яблочная и лимонная. У косточковых культур, помимо основных, в составе присутствует хинная кислота. Повышение концентрации кислот у многих плодов, продолжается до начала созревания, а затем постепенно снижается (Newerli-Guz et al., 2023).

В плодах яблони преобладающей кислотой является яблочная. На её долю приходится более 80% от общего содержания кислоты, и ею обуславливается терпкость плодов (Scherer et al., 2012). Увеличение концентрации яблочной кислоты связано с генами *MdWRKY126* и *MdMal2*, которые регулируют накопление малата и активность малатдегидрогеназы (Gao et al., 2022; Zhang et al., 2022).

У черешни преобладающей кислотой также является яблочная. В незначительных количествах присутствуют лимонная и янтарная кислоты (Usenik et al., 2008).

В плодах абрикоса и персика могут содержаться в большом количестве как яблочная, так и лимонная кислоты (Ma et al., 2024).

В плодах цитрусовых культур экспрессия гена *CrMYB73*, относящегося к семейству R2R3 MYB, положительно коррелирует с содержанием лимонной кислоты (Li et al., 2012).

Кроме основных органических кислот, в плодах земляники, в небольшом количестве, содержатся винная, янтарная, щавелевая, галловая и кумариновая кислоты (Newerli-Guz et al., 2023). Преобладающей кислотой является лимонная (Нарова et al., 2009; Voloschenko et al., 2011; Liu Y. et al., 2022; Newerli-Guz et al., 2023). Процент содержания лимонной кислоты в ягодах варьирует в пределах 73,5-84,7%. С течением времени концентрация лимонной кислоты может изменяться, так как ее выработка зависит от внешних климатических и экологических факторов (Newerli-Guz et al., 2023). Предположительно, в метаболизме лимонной кислоты в плодах земляники участвует транскрипционный фактор *FaMYB5*, кодируемый геном семейства R2R3-MYB. Повышение экспрессии *FaMYB5* приводило к увеличению содержания лимонной кислоты. Снижение экспрессии, напротив, приводило к понижению концентрации лимонной кислоты. Известно, что *FaMYB5* также действует на промоторы генов *FaCS2* (цитратсинтаза), *FaACO* (аконитаза), и *FaGAD* (глутаматдекарбоксилаза), связанные с лимонной кислотой. *FaMYB5* увеличивает экспрессию *FaCS2* и подавляет уровни транскрипции *FaACO*, и *FaGAD*

(Liu Y. et al., 2022; Wang J et al., 2022). Несмотря на то, что преобладающей органической кислотой в составе плодов является лимонная, есть сорта, у которых преобладает яблочная кислота. Например, в 2004 году было проведено исследование содержания кислот у плодов сорта 'Эльсанта' ('Elsanta'), показавшее, что преобладающей кислотой была яблочная (Skupień, Oszmiański, 2004). Регуляция аскорбиновой кислоты в плодах предположительно осуществляется геном *FaGalUR* (D-галактуронатредуктаза) (Liu H. et al., 2022). Ген *FaAKR23*, был определён как регулятор накопления аскорбиновой кислоты и антоцианов (Wei et al., 2022). Распределение кислот происходит равномерно по всему плоду земляники (Newerli-Guz et al., 2023).

Таким образом, в определении вкусовых качеств задействованы показатели аромата и сахаро-кислотного индекса и для создания сортов земляники с улучшенным вкусом плодов необходимо исследовать комплекс этих показателей.

Заключение

Земляника садовая (*F. × ananassa* Duch.) является одной из основных ягодных культур, выращиваемых во всем мире. Селекция, направленная на улучшение транспортабельности, устойчивости к патогенам, урожайности привела к ухудшению вкусовых качеств ягод. Создание сортов земляники садовой с улучшенными вкусовыми качествами является актуальной задачей. В настоящей статье рассмотрено большое количество генов, регулирующих аромат плодов, накопление сахаров и кислот у различных плодовых и ягодных культур. В плодах земляники важнейшими генами регуляции аромата являются – *FaOMT*, *FaFAD1*, *FaAAMT*. Уровень концентрации сахарозы определяется генами *FaSPS*, *FaPHSI*, *FaSUC11*, *FaSUSY*; глюкозы – *FaGlu8*, *FaGlu3*, фруктозы – *FaFRU*. Синтез лимонной кислоты регулирует *FaMYB5*; аскорбиновой кислоты – *FaAKR23* и *FaGalUR*. Указанные в статье гены могут стать мишенями для создания сортов земляники с заданными качествами путем применения методов ускоренной селекции.

References/Литература

- Aharoni A., Giri A.P., Verstappen F.W., Berteaux C.M., Sevenier R., Sun Z., Jongsma M.A., Schwab W., Bouwmeester H.J. Gain and loss of fruit flavor compounds produced by wild and cultivated strawberry species. *The Plant Cell*. 2004;16(11):3110-3131. DOI: 10.1105/tpc.104.023895
- Akter F., Wu S., Islam M.S., Kyaw H., Yang J., Li M., Fu Y., Wu J. An efficient agrobacterium-mediated genetic transformation system for gene editing in strawberry (*Fragaria × ananassa*). *Plants*. 2024;13:563. DOI: 10.3390/plants13050563
- Alabd A., Ni J., Bai S., Teng Y. Transcriptional co-regulation of anthocyanin accumulation and acidity in fruits. *Fruit Research*. 2024;4(1):1-8 DOI: 10.48130/frures-0023-0041
- Arifova Z.I. Selection of initial material of strawberry on a complex of traits for the breeding process. *Bulletin of the State Nikitsky Botanical Gardens*. 2019;131:85-88. [in Russian] [Арифова З.И. Подбор исходного материала земляники садовой по

- комплексу признаков для селекционного процесса. *Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада*. 2019;131:85-88).
- Aslam M., Deng L., Wang X., Wang Y., Pan L., Liu H., Niu L., Lu Z., Cui G., Zeng W., Wang Z. Expression patterns of genes involved in sugar metabolism and accumulation during peach fruit development and ripening. *Scientia Horticulturae*. 2019;257:108633. DOI: 10.1016/j.scienta.2019.108633
- Barbey C.R., Hogshead M.H., Harrison B., Schwartz A.E., Verma S., Oh Y., Lee S., Folta K.M., Whitaker V.M. Genetic analysis of methyl anthranilate, mesifurane, linalool, and other flavor compounds in cultivated strawberry (*Fragaria × ananassa*). *Frontiers in Plant Science*. 2021;12:615749. DOI: 10.3389/fpls.2021.615749
- Baturin S.O., Kuznetsova L.L. Achievements and perspectives of breeding pink flowering garden strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) in Western Siberia. *Information bulletin of VOGiS*. 2010;14(1):165-171. [in Russian] (Батурин С.О., Кузнецова Л.Л. Состояние и перспективы селекции розовоцветковой крупноплодной земляники (*Fragaria × ananassa* Duch.) в Западной Сибири. *Информационный вестник ВОГиС*. 2010;14(1):165-171).
- Conti S., Villari G., Faugno S., Melchionna G., Somma S., Caruso G. Effects of organic vs. conventional farming system on yield and quality of strawberry grown as an annual or biennial crop in southern Italy. *Scientia Horticulturae*. 2014;180:63-71. DOI: 10.1016/j.scienta.2014.10.015
- Crespo P., Bordonaba J.G., Terry L.A., Carlen C. Characterisation of major taste and health-related compounds of four strawberry genotypes grown at different Swiss production sites. *Food Chemistry*. 2010;122(1):16-24. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.02.010
- De Mori G., Cipriani G. Marker-assisted selection in breeding for fruit trait improvement: A review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(10):8984. DOI: 10.3390/ijms24108984
- Doev D.N., Kozyrev A.H., Hekilaev C.A. The effect of micronutrients on the quality of strawberries (Vliyanie mikroudobreniy na kachestvo yagod zemlyaniki). In: *Prospects for the Development of the Agro-Industrial Complex in Modern Conditions: materials of the 8th International Scientific and Practical Conference; 2019 April 18-19; Vladikavkaz, Russia (Perspektivy razvitiya APK v sovremennykh usloviyakh: materialy 8-y Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii; 18-19 aprelya 2019; Vladikavkaz, Rossiya)*. Vladikavkaz; 2019. C.22-25. [in Russian] (Доев Д.Н., Козырев А.Х., Хекилаев Ц.А. Влияние микроудобрений на качество ягод земляники. В кн.: *Перспективы развития АПК в современных условиях: материалы 8-й Международной научно-практической конференции; 18-19 апреля 2019 г.; Владикавказ, Россия*. Владикавказ; 2019. С.22-25).
- Du M., Zhu Y., Nan H., Zhou Y., Pan X. Regulation of sugar metabolism in fruits. *Scientia Horticulturae*. 2024;326:112712. DOI: 10.1016/j.scienta.2023.112712
- Dunemann F., Ulrich D., Malysheva-Otto L., Weber W.E., Longhi S., Velasco R., Costa F. Functional allelic diversity of the apple alcohol acyl-transferase gene *MdAAT1* associated with fruit ester volatile contents in apple cultivars. *Molecular Breeding*. 2012;29:609-625. DOI: 10.1007/s11032-011-9577-7
- Durán-Soria S., Pott D.M., Osorio S., Vallarino J.G. Sugar signaling during fruit ripening. *Frontiers in Plant Science*. 2020;11:564917. DOI: 10.3389/fpls.2020.564917
- Echeverria G., Graell J., López M., Lara I. Volatile production, quality and aroma-related enzyme activities during maturation of 'Fuji' apples. *Postharvest Biology and Technology*. 2004;31:217-227. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2003.09.003
- Eduardo I., Chietera G., Bassi D., Rossini L., Vecchiotti A. Identification of key odor volatile compounds in the essential oil of nine peach accessions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2010;90(7):1146-1154. DOI: 10.1002/jsfa.3932
- Fan R., Peng C., Xu Y., Wang X., Li Y., Shang Y., Du S., Zhao R., Zhang X., Zhang L., Zhang D. Apple sucrose transporter SUT1 and sorbitol transporter SOT6 interact with cytochrome b5 to regulate their affinity for substrate sugars. *Plant Physiology*. 2009;150:1880-1901. DOI: 10.1104/pp.109.141374
- Fan Z., Jeffries K.A., Sun X., Olmedo G., Zhao W., Mattia M.R., Stover E., Manthey J.A., Baldwin E.A., Lee S., Gmitter F.G., Plotto A., Bai J. Chemical and genetic basis of orange flavor. *Science Advances*. 2024;10(9):eadk2051. DOI: 10.1126/sciadv.adk2051
- Fan Z., Hasing T., Johnson T., Garner D., Schwieterman M., Barbey C., Colquhoun T., Sims C., Resende M., Whitaker V. Strawberry sweetness and consumer preference are enhanced by specific volatile compounds. *Horticulture Research*. 2021;8:66. DOI: 10.1038/s41438-021-00502-5
- FAOSTAT. The Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations. Available from: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> [accessed 10.07.2024]
- Fu X., Cheng S., Zhang Y., Du B., Feng C., Zhou Y., Mei X., Jiang Y., Duan X., Yang Z. Differential responses of four biosynthetic pathways of aroma compounds in postharvest strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) under interaction of light and temperature. *Food Chemistry*. 2017;221:356-364. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.10.082
- Gao M., Zhao H., Zheng L., Zhang L., Peng Y., Ma W., Tian R., Yuan Y., Ma F., Li M., Ma B. Overexpression of apple *Mal2*, a mitochondrial pyrophosphatase pump gene, leads to malic acid accumulation and the upregulation of malate dehydrogenase in tomato and apple calli. *Horticulture Research*. 2022;9:uhab053. DOI: 10.1093/hr/uhab053
- Gilbert J.M., Young H., Ball R.D., Murray S.H. Volatile flavor compounds affecting consumer acceptability of kiwifruit. *Journal of Sensory Studies*. 1996;11(3):247-259. DOI: 10.1111/j.1745-459X.1996.tb00044.x
- Напова С.А., Маидебура Н.М., Шибаяев Е.В. Peculiarities of strawberry varieties under greenhouse condition and on the open ground. *Agroindustrial complex of Upper Volga Region Herald*. 2009;(2):7-11. [in Russian] (Хапова С.А., Маидебура Н.М., Шибаяев Е.В. Особенности сортов земляники садовой в защищенном и открытом грунте. *Вестник АПК Верхневолжья*. 2009;(2):7-11).
- Khlestkina E.K., Shumny V.K. Prospects for application of breakthrough technologies in breeding: the Crispr/Cas9 system for plant genome editing. *Russian Journal of Genetics*. 2016;52(7):676-687. DOI: 10.7868/S0016675816070055
- Lee J., Kim H., Noh Y., Min S.R., Lee H., Jung J., Park K., Kim D., Nam M.H., Kim T.I., Kim S., Kim H. Sugar content and expression of sugar metabolism-related gene in strawberry fruits from various cultivars. *Journal of Plant Biotechnology*. 2018;45(2):90-101. DOI: 10.5010/JPB.2018.45.2.090
- Li D., Xu Y., Xu G., Gu L., Li D., Shu H. Molecular cloning and expression of a gene encoding alcohol acyltransferase (*MdAAT2*) from apple (cv. Golden Delicious). *Phytochemistry*. 2006;67(7):658-667. DOI: 10.1016/j.phytochem.2006.01.027
- Li M., Feng F., Cheng L. Expression patterns of genes involved in sugar metabolism and accumulation during apple fruit development. *PLoS One*. 2012;7(3):33055. DOI: 10.1371/journal.pone.0033055
- Li S.J., Liu X.J., Xie X.L., Grierson D., Yin X.R., Chen K.S. *CrMYB73*, a PH-like gene, contributes to citric acid accumulation in citrus fruit. *Scientia Horticulturae*. 2015;197:212-217. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.09.037
- Li X., Gao P., Zhang C., Xiao X., Chen C., Song F. Aroma of peach fruit: a review on aroma volatile compounds and underlying regulatory mechanisms. *International Journal of Food Science and Technology*. 2023a;58(10):4965-4979. DOI: 10.1111/ijfs.16621
- Li X., Wang J., Su M., Zhang M., Hu Y., Du J., Zhou H., Yang X., Zhang X., Jia H., Gao Z., Ye Z. Multiple-statistical genome-wide association analysis and genomic prediction of fruit aroma and agronomic traits in peaches. *Horticulture Research*. 2023b;10(7):uhad117. DOI: 10.1093/hr/uhad117
- Li Y., He L., Song Y., Zhang P., Chen D., Guan L., Liu S. Comprehensive study of volatile compounds and transcriptome data providing genes for grape aroma. *BMC Plant Biology*. 2023;23(1):171. DOI: 10.1186/s12870-023-04191-1
- Liston A., Cronn R., Ashman T.L. *Fragaria*: a genus with deep historical roots and ripe for evolutionary and ecological insights. *American Journal of Botany*. 2014;101(10):1686-1699. DOI: 10.3732/ajb.1400140
- Liu H., Wei L., Ni Y., Chang L., Dong J., Zhong C., Sun R., Li S.,

- Xiong R., Wang G., Sun J., Zhang Y., Gao Y. Genome-wide analysis of ascorbic acid metabolism related genes in *Fragaria × ananassa* and its expression pattern analysis in strawberry fruits. *Frontiers in Plant Science*. 2022;13:954505. DOI: 10.3389/fpls.2022.954505
- Liu H.-T., Lyu W.-Y., Tian S.-H., Zou X.-H., Zhang L.-Q., Gao Q.-H., Ni D.-A., Duan K. The SWEET family genes in strawberry: identification and expression profiling during fruit development. *South African Journal of Botany*. 2019;125:176-187. DOI: 10.1016/j.sajb.2019.07.002
- Liu W., Chen Z., Jiang S., Wang Y., Fang H., Zhang Z., Chen X., Wang N. Research progress on genetic basis of fruit quality traits in apple (*Malus × domestica*). *Frontiers in Plant Science*. 2022;13:918202. DOI: 10.3389/fpls.2022.918202
- Liu Y., Zhu L., Yang M., Xie X., Sun P., Fang C., Zhao J. R2R3-MYB transcription factor FaMYB5 is involved in citric acid metabolism in strawberry fruits. *Journal of Plant Physiology*. 2022;277:153789. DOI: 10.1016/j.jplph.2022.153789
- Liu Z., Liang T., Kang C. Molecular bases of strawberry fruit quality traits: Advances, challenges, and opportunities. *Plant Physiology*. 2023;193(2):900-914. DOI: 10.1093/plphys/kiad376
- Lyzhin A.S., Luk'yanchuk I.V. Analysis of promising strawberry hybrid forms by *FAOMT* and *FaFAD1* fruit aroma genes. *Taurida Herald of the Agrarian Science*. 2021;3(27):117-124. [in Russian] (Лыжин А.С., Лукьянчук И.В. Анализ перспективных гибридных форм земляники по генам *FaOMT* и *FaFAD1* аромата плодов. *Таврический вестник аграрной науки*. 2021;3(27):117-124). DOI: 10.33952/2542-0720-2021-3-27-117-124
- Lyzhin A.S., Luk'yanchuk I.V. Analysis of strawberry varieties and forms for the (*Rca2*) anthracnose resistance gene with molecular markers. *Fruit Growing and Viticulture of South Russia*. 2019;55:1-11. [in Russian] (Лыжин А.С., Лукьянчук И.В. Анализ сортов и форм земляники по гену устойчивости к антракнозу (*Rca2*) с использованием молекулярных маркеров. *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 2019;55:1-11). DOI: 10.30679/2219-5335-2019-1-55-1-11
- Lyzhin A.S., Luk'yanchuk I.V., Zhanova E.V. Polymorphism of the *FaOMT* and *FaFAD1* genes for fruit flavor volatiles in strawberry varieties and wild species from the genetic collection of the Michurin Federal Research Center. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(1):5. DOI: 10.18699/VJ20.588
- Ma Y., Tian T., Zhou J., Huang F., Wang Y., Liu Y., Liu Z., He W., Li M., Lin Y., Zhang Y., Zhang Y., Luo Y., Tang H., Chen Q., Wang X., Wang Y. Fruit sugar and organic acid composition and inheritance analysis in an intraspecific cross of Chinese cherry. *LWT*. 2024;198:116101. DOI: 10.1016/j.lwt.2024.116101
- Machulkin V.A., Sannikov T.A., Gulina A.V., Antipenko N.I. Using the sugar and acid index for the assessment of the quality of tomatoes fruits. *Bulletin of KrasGAU*. 2020;5(158):168-172. [in Russian] (Мачулкин В.А., Санникова Т.А., Гулина А.В., Антипенко Н.И. Использование сахарно-кислотного индекса для оценки качества плодов томатов. *Вестник КрасГАУ*. 2020;5(158):168-172). DOI: 10.36718/1819-4036-2020-5-168-172
- Mezhnina O.A., Urbanovich O.Yu. Identification of strawberry varieties (*Fragaria ananassa*) using SSR markers. *Molecular and Applied Genetics*. 2016;20:37-45. [in Russian] (Межнина О.А., Урбанович О.Ю. Идентификация сортов земляники садовой (*Fragaria ananassa*) с использованием SSR-маркеров. *Молекулярная и прикладная генетика*. 2016;20:37-45).
- Newerli-Guz J., Śmiechowska M., Drzewiecka A., Tylingo R. Bioactive ingredients with health-promoting properties of strawberry fruit (*Fragaria × ananassa* Duchesne). *Molecules*. 2023;28(6):2711. DOI: 10.3390/molecules28062711
- Oh Y., Barbey C.R., Chandra S., Bai J., Fan Z., Plotto A., Pillet J., Foltá K.M., Whitaker V.M., Lee S. Genomic characterization of the fruity aroma gene, *FaFAD1*, reveals a gene dosage effect on γ -decalactone production in strawberry (*Fragaria × ananassa*). *Frontiers in Plant Science*. 2021;12:639345. DOI: 10.3389/fpls.2021.639345
- Olbricht K., Grafe C., Weiss K., Ulrich D. Inheritance of aroma compounds in a model population of *Fragaria × ananassa* Duch. *Plant Breeding*. 2008;127(1):87-89. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2007.01422.x
- Peng Q., Cai Y., Lai E., Nakamura M., Liao L., Zheng B., Ogutu C., Cheron S., Han Y. The sucrose transporter *MdSUT4.1* participates in the regulation of fruit sugar accumulation in apple. *BMC Plant Biology*. 2020;20:191. DOI: 10.1186/s12870-020-02406-3
- Podorozhnyi V.N., Gorelikova O.A. Criteria and parameters of the choice of varieties of strawberry for intensive technologies of its cultivation in Krasnodar region. *Pomiculture and Small Fruits Culture in Russia*. 2014;40(2):176-183. [in Russian] (Подорожный В.Н., Гореликова О.А. Критерии и параметры выбора сортов земляники для интенсивных технологий её возделывания в Краснодарском крае. *Плодоводство и ягодоводство России*. 2014;40(2):176-183).
- Prichko T.G., Germanova M.G. Suitability of strawberry cultivars from the Krasnodar Territory for quick freezing. (Sortopriгодnost' yagod zemlyaniki Krasnodarskogo kraja dlya bystroy zamorozki). *Horticulture and Viticulture*. 2011;(6):16-19. [in Russian] (Причко Т.Г., Германова М.Г. Сортопригодность ягод земляники Краснодарского края для быстрой заморозки. *Садоводство и виноградарство*. 2011;(6):16-19).
- Qi L., Li C., Sun J.; Liu W., Yang Y., Li X., Li H., Du Y., Mostafa I., Yin Z. Jasmonate promotes ester aroma biosynthesis during nanguo pears storage. *Horticulturae*. 2024;10(4):329. DOI: 10.3390/horticulturae10040329
- Rakhmangulov R.S. Application of the CRISPR/Cas system for gene editing in ornamental crops. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2022;5(3):33-41. [in Russian]. (Рахмангулов Р.С. Применение системы CRISPR/Cas для редактирования генов декоративных культур. *Биотехнология и селекция растений*. 2022;5(3):33-41. DOI: 10.30901/2658-6266-2022-3-01
- Rakhmangulov R.S., Barabanov I.V., Erastenkova M.V., Ivanov A.A., Kovalenko T.V., Mezhdina K.M., Petrosyan I.A., Kharchenko A.A., Shaimardanov D.Yu., Shaimardanova E. Kh., Anisimova I.N., Tikhonova N.G., Ukhatova Yu.V., Khlestkina E.K. The new directions in genetics, breeding and biotechnology of ornamental and berry crops in the N.I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (VIR). *Plant Biotechnology and Breeding*. 2022;5(4):65-78. [in Russian]. (Рахмангулов Р.С., Барабанов И.В., Ерастенкова М.В., Иванов А.А., Коваленко Т.М., Межина К.М., Петросян И.А., Харченко А.А., Шаймарданов Д.Ю., Шаймарданова Э.Х., Анисимова И.Н., Тихонова Н.Г., Ухатова Ю.В., Хлесткина Е.К. Новые направления в генетике, селекции, биотехнологии декоративных и ягодных культур в ВИР им. Н.И. Вавилова. *Биотехнология и селекция растений*. 2022;5(4):65-78). DOI: 10.30901/2658-6266-2022-4-03
- Ren Y., Liao S., Xu Y. An update on sugar allocation and accumulation in fruits. *Plant Physiology*. 2023;193(2):888-899. DOI: 10.1093/plphys/kiad294
- Samarokova A.V., Kirichenko N.A. Historical aspects of the origin and distribution of the garden strawberry. In: *Innovative trends in the development of Russian science (Innovatsionnyye tendentsii razvitiya rossiyskoy nauki)*. Krasnoyarsk; 2023. p.105-107. [in Russian] (Самарокова А.В., Кириченко Н.А. Исторические аспекты происхождения и распространения земляники садовой. В кн.: *Инновационные тенденции развития российской науки*. Красноярск; 2023. С.105-107).
- Sánchez-Sevilla J.F., Cruz-Rus E., Valpuesta V., Botella M.A., Amaya I. Deciphering gamma-decalactone biosynthesis in strawberry fruit using a combination of genetic mapping, RNA-Seq and eQTL analyses. *BMC genomics*. 2014;15:1-15. DOI: 10.1186/1471-2164-15-218
- Scherer R., Rybka A., Ballus C., Meinhard A., Filho J., Godoy H. Validation of a HPLC method for simultaneous determination of main organic acids in fruits and juices. *Food Chemistry*. 2012;135:150-154. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012. 03.111
- Schiller D., Contreras C., Vogt J., Dunemann F., Defilippi B.G., Beaudry R., Schwab W. A dual positional specific lipoxigenase functions in the generation of flavor compounds during climacteric ripening of apple. *Horticulture Research*. 2015;2:280-292. DOI: 10.1038/hortres.2015.3
- Shanmugam A., Hossain M.R., Natarajan S., Jung H.J., Song J.Y., Kim H.T., Nou I.S. Sugar content analysis and expression profiling of sugar related genes in contrasting strawberry (*Fragaria × ananassa*) cultivars. *Journal of Plant Biotechnology*.

- 2017;44(2):178-190. DOI: 10.5010/JPB.2017.44.2.178
- Shulaev V., Sargent D.J., Crowhurst R.N., Mockler T.C., Folkerts O., Delcher A.L., Jaiswal P., Mockaitis K., Liston A., Mane S.P., Burns P., Davis T.M., Slovin J.P., Bassil N., Hellens R.P., Evans C., Harkins T., Kodira C., Desany B., Crasta O.R., Jensen R.V., Allan A.C., Michael T.P., Setubal J.C., Celton J.M., Rees D.J., Williams K.P., Holt S.H., Ruiz Rojas J.J., Chatterjee M., Liu B., Silva H., Meisel L., Adato A., Filichkin S.A., Troggio M., Viola R., Ashman T.L., Wang H., Dharmawardhana P., Elser J., Raja R., Priest H.D., Bryant D.W. Jr., Fox S.E., Givan S.A., Wilhelm L.J., Naithani S., Christoffels A., Salama D.Y., Carter J., Lopez Girona E., Zdepki A., Wang W., Kerstetter R.A., Schwab W., Korban S.S., Davik J., Monfort A., Denoyes-Rothan B., Arus P., Mittler R., Flinn B., Aharoni A., Bennetzen J.L., Salzberg S.L., Dickerman A.W., Velasco R., Borodovsky M., Veilleux R.E., Foltá K.M. The genome of woodland strawberry (*Fragaria vesca*). *Nature Genetics*. 2011;43(2):109-116. DOI: 10.1038/ng.740
- Skupiён K., Oszmiański J. Comparison of six cultivars of strawberries (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) grown in northwest Poland. *European Food Research and Technology*. 2004;219:66-70. DOI: 10.1007/s00217-004-0918-1
- State Register for Selection Achievements Admitted for Usage (National List). Vol. 1. "Plant varieties" (official publication). Moscow: Ministry of Agriculture of Russia; Gosortkommissiya; 2024. [in Russian] (Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1. «Сорта растений» (официальное издание). Москва: Министерство сельского хозяйства России; Госорткомиссия; 2024).
- Tian L., Jia H.F., Li C.L., Fan P.G., Xing Y., Shen Y.Y. Sucrose accumulation during grape berry and strawberry fruit ripening is controlled predominantly by sucrose synthase activity. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 2012;87(6):661-667. DOI: 10.1080/14620316.2012.11512927
- Tikhonova N.G., Khlestkina E.K. Genetic editing for improvement of fruit and small fruit crops. *Horticulture and Viticulture*. 2019;(4):10-15. [in Russian] (Тихонова Н.Г., Хлесткина Е.К. Генетическое редактирование для улучшения плодовых и ягодных культур. *Садоводство и виноградарство*. 2019;(4):10-15). DOI: 10.31676/0235-2591-2019-4-10-15
- Ufimtseva L.V., Glaz N.V., Lezin M.S. The use of sugar-acid index in the evaluation of varieties taste of honeyberry. In: *Scientific notes of the Chelyabinsk branch of the Russian Botanical Society (Uchenye zapiski Chelyabinskogo otdeleniya Russkogo Botanicheskogo obshchestva)*. Chelyabinsk; 2020. Iss. 3. p.123-127. [in Russian] (Уфимцева Л.В., Глаз Н.В., Лезин М.С. Сахаро-кислотный индекс при оценке вкусовых качеств сортов образцов жимолости. В кн.: *Ученые записки Челябинского отделения Русского ботанического общества*. Челябинск; 2020. Вып. 3. С.123-127).
- Ukhatova Y.V., Erastenkova M.V., Korshikova E.S., Krylova E.A., Mikhailova A.S., Semilet T.V., Tikhonova N.G., Shvachko N.A., Khlestkina E.K. Improvement of crops using the CRISPR/Cas system: new target genes. *Molecular Biology*. 2023;57(3):387-410. [in Russian] (Ухатова Ю.В., Ерастенкова М.В., Коршикова Е.С., Крылова Е.А., Михайлова А.С., Семилет Т.В., Тихонова Н.Г., Швачко Н.А., Хлесткина Е.К. Улучшение культурных растений при помощи системы CRISPR/Cas: новые гены-мишени. *Молекулярная биология*. 2023;57(3):387-410). DOI: 10.31857/S0026898423030151
- Ulrich D., Olbricht K. A search for the ideal flavor of strawberry – comparison of consumer acceptance and metabolite patterns in *Fragaria* × *ananassa* Duch. *Journal of Applied Botany and Food Quality*. 2016;89:223-234. DOI:10.5073/JABFQ.2016.089.029
- Urrutia M., Meco V., Rambla J.L., Martín-Pizarro C., Pillet J., Andres J., Sanchez-Sevilla J.F., Granell A., Hytönen T., Pose D. Diversity of the volatolome and the fruit size and shape in European woodland strawberry (*Fragaria vesca*). *The Plant Journal*. 2023;116(5):1201-1217. DOI: 10.1111/tpj.16404
- Usenik V., Fabčić J., Štampar F. Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Food Chemistry*. 2008;107(1):185-192. DOI:10.1016/j.foodchem.2007.08.004
- Villavicencio J.D., Zoffoli J.P., Plotto A., Contreras C. Aroma compounds are responsible for an herbaceous off-flavor in the sweet cherry (*Prunus avium* L.) Cv. Regina during fruit development. *Agronomy*. 2021;11(10):2020. DOI: 10.3390/agronomy11102020
- Voloschenko S.S., Sorokopudov V.N., Ivanova Yu.Yu., Sorokopudova O.A. Features of the chemical compound of berries of wild strawberry in the conditions of the Belgorod region. *Modern Problems of Science and Education*. 2011;6:271-271. [in Russian] (Волощенко С.С., Сорокопудов В.Н., Иванова Ю.Ю., Сорокопудова О.А. Особенности химического состава ягод земляники в условиях Белгородской области. *Современные проблемы науки и образования*. 2011;6:271-271).
- Vondracek K., Altpeter F., Liu T., Lee S. Advances in genomics and genome editing for improving strawberry (*Fragaria* × *ananassa*). *Frontiers in Genetics*. 2024;15:1382445. DOI: 10.3389/fgene.2024.1382445
- Wang J., Yin Y., Gao H., Sheng L. Identification of MYB transcription factors involving in fruit quality regulation of *Fragaria* × *ananassa* Duch. *Genes*. 2022;14(1):68. DOI: 10.3390/genes14010068
- Wang L., Zheng X., Ye Z., Su M., Zhang X., Du J., Li X., Zhou H., Huan C. Transcriptome co-expression network analysis of peach fruit with different sugar concentrations reveals key regulators in sugar metabolism involved in cold tolerance. *Foods*. 2023;12(11):2244. DOI: 10.3390/foods12112244
- Wang Q., Gao F., Chen X., Wu W., Wang L., Shi J., Huang Y., Shen Y., Wu G., Guo J. Characterization of key aroma compounds and regulation mechanism of aroma formation in local Binzi (*Malus pumila* × *Malus asiatica*) fruit. *BMC Plant Biology*. 2022;22(1):532. DOI: 10.1186/s12870-022-03896-z
- Wang W., Wang M.Y., Zeng Y., Chen X., Wang X., Barrington A.M., Tao J., Atkinson R.G., Nieuwenhuizen N.J. The terpene synthase (*TPS*) gene family in kiwifruit shows high functional redundancy and a subset of *TPS* likely fulfil overlapping functions in fruit flavour, floral bouquet and defence. *Molecular Horticulture*. 2023;3(1):9. DOI: 10.1186/s43897-023-00057-0
- Wei L., Liu H., Ni Y., Dong J., Zhong C., Sun R., Li S., Xiong R., Wang G., Sun J., Zhang Y., Chang L., Gao Y. *FaAKR23* modulates ascorbic acid and anthocyanin accumulation in strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) fruits. *Antioxidants*. 2022;11:1828. DOI: 10.3390/antiox11091828
- Xu H., Zou Q., Yang G., Jiang S., Fang H., Wang Y., Zhang J., Zhang Z., Wang N., Chen X. *MdMYB6* regulates anthocyanin formation in apple both through direct inhibition of the biosynthesis pathway and through substrate removal. *Horticulture Research*. 2020;7:1-17. Article No. 72. DOI: 10.1038/s41438-020-0294-4
- Yeliseyeva L.G., Blinnikova O.M., Novikova I.M. Characteristics of functional activity of different botanical grades of berries of wild strawberry garden. In: *Problems of identification, quality and competitiveness of consumer goods (Problemy identifikatsii, kachestva i konkurentosposobnosti potrebitel'skikh tovarov)*. Kursk; 2015. p.103-107. [in Russian] (Елисеева Л.Г., Блинникова О.М., Новикова И.М. Характеристика функциональной активности разных ботанических сортов ягод земляники садовой. В кн.: *Проблемы идентификации, качества и конкурентоспособности потребительских товаров*. Курск; 2015. С.103-107).
- Zhang C., Liu Y., Wang B., Li H., Zhang J., Ma Y., Dai H., Wang Y., Zhang Z. CRISPR/Cas9 targeted knockout *FvPHO2* can increase phosphorus content and improve fruit quality of woodland strawberry. *Scientia Horticulturae*. 2023;317:112078. DOI: 10.1016/j.scienta.2023.112078
- Zhang L., Ma B., Wang C., Chen X., Ruan Y.L., Yuan Y., Ma F., Li M. *MdWRKY126* modulates malate accumulation in apple fruit by regulating cytosolic malate dehydrogenase (*MdMDH5*). *Plant Physiology*. 2022;188(4):2059-2072. DOI: 10.1093/plphys/kiac023
- Zhang Q., Feng C., Li W., Qu Z., Zeng M., Xi W. Transcriptional regulatory networks controlling taste and aroma quality of apricot (*Prunus armeniaca* L.) fruit during ripening. *BMC genomics*. 2019;20:1-15. DOI: 10.1186/s12864-019-5424-8
- Zhen Q., Fang T., Peng Q., Lia L., Zhao L., Owiti A., Han Y. Developing gene-tagged molecular markers for evaluation of genetic association of apple *SWEET* genes with fruit sugar

- accumulation. *Horticulture research*. 2018;5:14. DOI: 10.1038/s41438-018-0024-3
- Zhu L., Tian X., Peng Y., Su J., Li B., Yang N., Ma F., Li M. Comprehensive identification of sugar transporters in the *Malus* spp. genomes reveals their potential functions in sugar accumulation in apple fruits. *Scientia Horticulturae*. 2022;303:111232. DOI: 10.1016/j.scienta.2022.111232
- Zorrilla-Fontanesi Y., Rambla J.L., Cabeza A., Medina J.J., Sánchez-Sevilla J.F., Valpuesta V., Botella M.A., Granel A., Amaya I. Genetic analysis of strawberry fruit aroma and identification of O-methyltransferase *FaOMT* as the locus controlling natural variation in mesifurane content. *Plant Physiology*. 2012;159(2):851-870. DOI: 10.1104/pp.111.188318

Информация об авторах

Ксения Максимовна Межина, младший научный сотрудник, лаборатория генетики, селекции, биотехнологии декоративных и ягодных культур, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, k.mezhina@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1587-2608>

Надежда Геннадьевна Тихонова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, заведующий, отдел генетических ресурсов плодовых и ягодных культур, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, n.g.tikhonova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7098-7662>

Information about the authors

Ksenya M. Mezhdina, Junior Researcher, Laboratory of Genetics, Breeding, Biotechnology of Ornamental and Berry Crops, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, k.mezhina@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1587-2608>

Nadezhda G. Tikhonova, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Head, Department of Genetic Resources of Fruit and Berry Crops, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, n.g.tikhonova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7098-7662>

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 03.10.2024; одобрена после рецензирования 03.11.2024; принята к публикации 26.12.2024.

The article was submitted on 03.10.2024; approved after reviewing on 03.11.2024; accepted for publication on 26.12.2024.

Научная статья

УДК 635.21:631.523+631.526.32

DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-03



Номенклатурные стандарты и генетические паспорта сортов картофеля селекции Камчатского НИИСХ и ФНЦ агrobiотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки

Д.А. Рыбаков¹, И.В. Ким², А.Д. Иващенко³, **Т.П. Шерстюкова³**, О.Ю. Антонова¹, Т.А. Гавриленко¹

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

²Федеральный научный центр агrobiотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки, Уссурийск, Россия

³Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Камчатский НИИСХ – филиал ВИР, село Сосновка, Россия

Автор, ответственный за переписку: Татьяна Андреевна Гавриленко, tatjana9972@yandex.ru

В рамках комплексной программы регистрации и сохранения генофонда российских сортов в генбанке ВИР, инициированной во Всероссийском институте генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, были назначены номенклатурные стандарты пяти сортов картофеля, созданных в Камчатском НИИСХ (в настоящее время филиал ВИР): ‘Вулкан’ (WIR-108746), ‘Гейзер’ (WIR-108747), ‘Камчатка’ (WIR-108748), ‘Северянин’ (WIR-108749), ‘Солнышко’ (WIR-108750), и шести сортов селекции ФГБНУ «ФНЦ агrobiотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки»: ‘Дачный’ (WIR-108751), ‘Казачок’ (WIR-108752), ‘Моряк’ (WIR-108753), ‘Орион’ (WIR-108755), ‘Посейдон’ (WIR-108756), ‘Смак’ (WIR-108754). Номенклатурные стандарты переданы на хранение в типовой фонд гербария ВИР (WIR). Растительный материал, собранный соавторами сортов и переданный в ВИР для гербаризации, был использован для выделения ДНК, генетической паспортизации, отбора эксплантов и введения образцов в культуру *in vitro*. Разработаны генетические паспорта 11 сортов с использованием восьми микросателлитных маркеров и 15 маркеров, ассоциированных с генами устойчивости к различным вредным организмам. Сопоставление микросателлитных профилей номенклатурных стандартов и одноименных образцов из коллекции *in vitro* ВИР подтвердило их идентичность.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*, гербарий ВИР, WIR, генетическая паспортизация, генотипирование, ДНК маркеры, коллекции

Благодарности: работа выполнена в рамках государственных заданий согласно тематическому плану ВИР по темам: № FGEM-2022-0004, № FGEM-2022-0006 и № FGEM-2022-0008.

Для цитирования: Рыбаков Д.А., Ким И.В., Иващенко А.Д., Шерстюкова Т.П., Антонова О.Ю., Гавриленко Т.А. Номенклатурные стандарты и генетические паспорта сортов картофеля селекции Камчатского НИИСХ и ФНЦ агrobiотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки. *Биотехнология и селекция растений*. 2024;7(4):31-55. DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-03

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

© Рыбаков Д.А., Ким И.В., Иващенко А.Д., Шерстюкова Т.П., Антонова О.Ю., Гавриленко Т.А., 2024

Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-03

Nomenclatural standards and genetic passports of potato cultivars bred by the Kamchatka Research Institute of Agriculture and the Federal Scientific Center of Agricultural Biotechnology of the Far East named after A.K. Chaika

Daniil A. Rybakov¹, Irina V. Kim², Anna D. Ivashchenko³, Tamara P. Sherstyukova³, Olga Yu. Antonova¹, Tatjana A. Gavrilenko¹

¹N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia

²Federal Scientific Center of Agricultural Biotechnology of the Far East named after A.K. Chaika, Ussuriysk, Russia

³N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), Kamchatka Research Institute of Agriculture – branch of VIR, Sosnovka village, Russia

Corresponding author: Tatjana A. Gavrilenko, tatjana9972@yandex.ru

Nomenclatural standards of five potato cultivars ‘Vulkan’ (WIR-108746), ‘Gejzer’ (WIR-108747), ‘Kamčatka’ (WIR-108748), ‘Severânin’ (WIR-108749), and ‘Solnyško’ (WIR-108750) bred by the Kamchatka Research Institute of Agriculture (currently a branch of VIR), and six potato cultivars ‘Dačnyj’ (WIR-108751), ‘Kazačok’ (WIR-108752), ‘Morâk’ (WIR-108753), ‘Orion’ (WIR-108755), ‘Posejdon’ (WIR-108756), and ‘Smak’ (WIR-108754) bred by the Federal Scientific Center of Agricultural Biotechnology of the Far East named after A.K. Chaika, were prepared within the framework of the comprehensive program initiated at the All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR) for registering the gene pool of Russian cultivars and preserving them in the institute’s gene bank. Plant material of the cultivars collected by the authors and transferred to VIR for herbarization was also used for DNA extraction, genetic certification, selection of explants and introducing them into the *in vitro* culture. Genetic passports of 11 cultivars have been developed using eight microsatellite markers and 15 markers associated with *R*-genes of resistance to various pests. A comparison of microsatellite profiles of nomenclatural standards and accessions of the same name from the VIR *in vitro* collection confirmed their identity.

Keywords: *Solanum tuberosum*, VIR herbarium, WIR, genetic passport, genotyping, DNA markers, collections

Acknowledgements: the research was performed within the framework of the State Assignment according to the Theme Plan of VIR, topics No. FGEM-2022-0004, No. FGEM-2022-0006, and No. FGEM-2022-0008.

For citation: Rybakov D.A., Kim I.V., Ivashchenko A.D., Sherstyukova T.P., Antonova O.Yu., Gavrilenko T.A. Nomenclatural standards and genetic passports of potato cultivars bred by the Kamchatka Research Institute of Agriculture and the Federal Scientific Center of Agricultural Biotechnology of the Far East named after A.K. Chaika. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2024;7(4):31-55. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-03

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

© Rybakov D.A., Kim I.V., Ivashchenko A.D., Sherstyukova T.P., Antonova O.Yu., Gavrilenko T.A., 2024

Введение

В Федеральном исследовательском центре «Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» (далее – ВИР) были инициированы исследования по созданию номенклатурных стандартов российских сортов, которые оформляют в соответствии с рекомендациями Международного кодекса номенклатуры культурных растений (МКНКР – ICNCP) (Brickell et al., 2016) и сохраняют в типовом фонде Гербария культурных растений мира, их диких родичей и сорных растений (Гербарий ВИР – WIR). Первые в России номенклатурные стандарты были созданы в 2020 году для отечественных сортов картофеля в совместных исследованиях сотрудников ВИР и селекционеров – соавторов сортов, которые отбирали растительный материал для гербаризации (Fomina et al., 2020a; b; Klimentko et al., 2020; Rybakov et al., 2020). Позднее номенклатурные стандарты начали создавать и для российских сортов яблони (Bagmet, Shlyavas, 2021), чёрной смородины (Tikhonova et al., 2021), малины (Kamnev et al., 2021). Работу по оформлению проводят и для других культур (Evdokimenko et al., 2023; Bagmet, Tarasova, 2023; Bagmet, Tikhonova, 2023; Varganova et al., 2023; Lebedeva et al., 2023; Ershova et al., 2023; Alexeeva, Chukhina, 2024). Обнародованные номенклатурные стандарты, сохраняемые в научном гербарии, позволяют избежать повторного использования названий для разных сортов (Brickell et al., 2016).

Одновременно в ВИР была инициирована оригинальная комплексная стратегия регистрации сортового генофонда в генетических банках (далее: комплексная стратегия) для различных вегетативно размножаемых культур (Gavrilenko, Chukhina, 2020; Gavrilenko et al., 2022). Согласно этой стратегии, растительный материал, отобранный соавторами сортов, передается в ВИР для создания номенклатурных стандартов сортов и используется для их генетической паспортизации, а также для сохранения образцов в живом виде в контролируемых условиях *in vitro* и крио-хранения (Gavrilenko, Chukhina, 2020). Реализация целей комплексной стратегии способствует защите авторских прав селекционеров, поскольку позволяет сопоставлять данные генотипирования разных образцов сорта, получаемых из различных источников, с генетическим паспортом номенклатурного стандарта, оформленного в соответствии с рекомендациями МКНКР, который может храниться в научном гербарии не одно столетие, сохраняя как фенотипические, так и генотипические характеристики сорта. К настоящему времени комплексная стратегия была реализована в полном объеме для ряда сортов картофеля селекции «ФИЦ картофеля им. А.Г. Лорха (Rybakov et al., 2020; Klimentko et al., 2020; Efremova et al., 2023), Татарского НИИСХ «Казанский научный центр РАН» (Fomina et al., 2020a; Efremova et al., 2023), ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения РАН» (Oskina et al., 2023) и нескольких сибирских селекцион-

ных центров (Fomina et al., 2020b; Rybakov et al., 2022).

Данные исследования были продолжены в совместной работе сотрудников ВИР с соавторами сортов – селекционерами из Дальневосточного региона – Приморского края (ФГБНУ «ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки») и Камчатки (ФГБНУ Камчатский НИИСХ – филиал ВИР им. Н.И. Вавилова).

В каждом из этих учреждений селекцией новых сортов картофеля занимаются на протяжении многих десятилетий – в ФГБНУ «ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки» еще с середины прошлого века (в то время – Приморская государственная опытная станция, с 1976 по 2018 год – Приморский НИИ сельского хозяйства). Первоначально селекционные исследования проводили на основе изучения и клонового отбора сортов отечественной и зарубежной селекции, а позднее – на основе выделения источников хозяйственно ценных признаков и изучения перспективных гибридных комбинаций (Smoley, 1970; Chaika, Vashchenko, 2017). В конце прошлого века с участием сотрудников Приморского НИИСХ были созданы сорта картофеля: ‘Богатырь’ (1977 г.), ‘Филатовский’ (1981 г.), ‘Долинный’ (1984 г.), ‘ПРИ-12’ (1992 г.), ‘Синева’ (1998 г.). Итогом селекционной работы двух последних десятилетий явилось создание высокопродуктивных сортов, устойчивых к различным фитопатогенам, адаптированных к условиям муссонного климата Дальневосточного региона: ‘Янтарь’ (2004 г.), ‘Дачный’ (2013 г.), ‘Смак’ (2016 г.), ‘Казачок’ (2017 г.), ‘Августин’ (2018 г.), ‘Моряк’ (2024 г.).

Селекционные исследования по созданию новых сортов картофеля на Камчатке были начаты в 1974 году на Камчатской государственной сельскохозяйственной опытной станции (с 1992 г. – Камчатский НИИ сельского хозяйства, а с 2023 года Камчатский НИИСХ стал филиалом ВИР). Селекционные программы включают отбор источников ценных признаков, подбор родительских пар для скрещиваний и селекции на устойчивость к фитопатогенам, раннеспелость и высокое содержание крахмала. В результате многолетней селекционной работы были созданы среднеранние сорта ‘Солнышко’, ‘Вулкан’, ‘Гейзер’, ‘Северянин’, среднеспелый – ‘Камчатка’, и раннеспелый – ‘Жемчужина Камчатки’ (Sherstyukova, Gamolina, 2016).

В настоящей работе представлены результаты совместных исследований сотрудников ВИР с соавторами сортов картофеля из ФГБНУ «ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки» (далее – ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока) и из ФГБНУ «Камчатского НИИСХ – филиала ВИР» (далее – Камчатский НИИСХ), задачи которых включали: создание номенклатурных стандартов одиннадцати дальневосточных сортов картофеля, выведенных в этих научных учреждениях, их генетическую паспортизацию и сохранение в *in vitro* коллекции ВИР.

Материалы и методы

Растительный материал. В августе 2022 года в ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока были собраны клубни созданных в этом институте трех сортов: 'Дачный', 'Казачок', 'Смак' и трех предсортов: Моряк, Орион, Посейдон, а также пяти селекционных клонов При-16-02-4, При-16-09-2, При-16-13-2, При-17-05-1 и При-17-05-4. В 2024 году 'Моряк', 'Орион' и 'Посейдон' успешно завершили госсортоиспытания, о чем авторам выданы официальные документы. Сбор проводила главный научный сотрудник ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока, д.с.-х.н. И.В. Ким, которая является соавтором большинства сортов, переданных в Гербарий ВИР из этого центра. Клубни были переданы в ВИР в два приема – в августе 2022 года ВИР получил клубни трех сортов и в декабре 2022 года – клубни предсортов и пяти селекционных клонов.

В августе 2022 года в Гербарий ВИР из Камчатского НИИСХ были переданы клубни пяти сортов картофеля: 'Вулкан', 'Гейзер', 'Камчатка', 'Северянин', 'Солнышко', созданных в этом институте. Клубни были собраны соавтором этих сортов, старшим научным сотрудником Камчатского НИИСХ Т.П. Шерстюковой. Позднее к работе с этим материалом подключилась соавтор ряда камчатских сортов А.Д. Иващенко.

Клубни перечисленных выше дальневосточных сортов были высланы в ВИР вместе с сопроводительными документами: актами передачи, подписанными соавторами этих сортов, подтверждающими аутентичность переданного материала, а также с официальными документами: патентами, Описаниями селекционных достижений, Анкетами сортов, справками (Приложения 1, 2/ Supplements 1, 2)¹.

Соавторы сортов, созданных в Камчатском НИИСХ и в ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока, передавали растительный материал в ВИР с целью создания номенклатурных стандартов и генетических паспортов дальневосточных сортов, а также для их сохранения в контролируемых условиях в коллекции ВИР, в соответствии с комплексной стратегией регистрации сортового генофонда в генбанках (Gavrilenko, Chukhina, 2020). Согласно разработанному в рамках этой стратегии протоколу, растительный материал каждого сорта картофеля должен отбираться соавтором сорта лично и передаваться в ВИР в два этапа – вначале побеги, а затем клубни, собранные с одного и того же растения. В настоящей работе произошла модификация этого протокола из-за больших расстояний между институтами, осложняющими передачу побегов с цветками. Поэтому из обоих дальневосточных институтов в ВИР был передан только клубневой материал (по четыре-шесть клубней, собранных с одного растения каждого сорта), который был использо-

ван для гербаризации, выделения ДНК, получения световых ростков и их фотодокументации, а также для высадки клубней на опытном поле «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» (Санкт-Петербург, г. Пушкин) в мае 2023 года.

Гербаризация и оформление номенклатурных стандартов. Клубни, переданные в ВИР, препарировали в соответствии с разработанными в ВИР рекомендациями (Gavrilenko, Chukhina, 2020), используя для гербаризации фрагмент кожуры и продольный срез клубня.

Побеги с соцветиями отделяли от растений первой клубневой репродукции, выращенных на опытном поле в Пушкине в 2023 году, и гербаризировали их в соответствии с методическими указаниями Н.И. Белозора (Belozor, 1989). Перед гербаризацией растительного материала проводили фото документирование морфологических признаков клубней, соцветий, цветка, которые сверяли с указанными в «Описании селекционного достижения» (см. Приложение 1/ Supplement 1). Оформление номенклатурных стандартов проведено в соответствии с рекомендациями МКНКР (ICNCP, Brickell et al., 2016).

Выделение ДНК. Из растительного материала (кожура клубней, верхние листья побегов) отбирали небольшое количество ткани для выделения ДНК. Препараты геномной ДНК получали с использованием модифицированного (Antonova et al., 2020) метода СТАВ-экстракции. Качество выделенной ДНК контролировали при помощи спектрофотометра Implen N60 (Implen, Германия).

Генетическую паспортизацию проводили с маркерами восьми высокополиморфных ядерных микросателлитных локусов, которые ранее были использованы нами для паспортизации сортов картофеля из различных селекционных центров РФ (Klimenko et al., 2020; Fomina et al., 2020a; b; Rybakov et al., 2020; 2022; Oskina et al., 2023). Полученные микросателлитные профили сортов были дополнены информацией о наличии/отсутствии диагностических фрагментов маркеров, ассоциированных с генами устойчивости к вредным организмам и с маркерами, детектирующими разные типы хлДНК и мтДНК. Подробная информация о маркерах, их авторах (Ahmadvand et al., 2013; Asano et al., 2012; Ballvora et al., 2002; Bryan et al., 1999; Colton et al., 2006; Feingold et al., 2005; Finkers-Tomczak et al., 2011; Flis et al., 2005; Ghislain et al., 2009; Hosaka, 2002; Hosaka, Sanetomo, 2012; Huang et al., 2005; Kasai et al., 2000; Lössl et al., 2000; Milbourne et al., 1998; Mori et al., 2011; Sanetomo, Hosaka, 2011; Schultz et al., 2012; Song, Schwarzfischer, 2008; Takeuchi et al., 2009; Valkonen et al., 2008; Wang et al., 2008) и условиях амплификации приведена в Приложении 3/ Supplement 3. Генетические паспорта также включали информацию о происхождении сорта, соответствующую данным патента, а также информацию из Государственного реестра селекционных достижений, допущенных к использованию (State Register...),

¹ Приложения доступны в онлайн версии статьи/ The supplements are available in the online version of the paper: DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-03

2024) и из анкеты сорта.

Сохранение образцов дальневосточных сортов картофеля в *in vitro* коллекции ВИР. Эксплантами для введения образцов в культуру *in vitro* послужили почки световых ростков, сформировавшихся на клубнях, переданных соавторами сортов в ВИР. Стерилизацию и перенос эксплантов в культуру *in vitro*, а также поддержание образцов в коллекции пробирочных растений проводили в соответствии с методическими указаниями ВИР (Dunaeva et al., 2017). Образцам, депонированным в *in vitro* коллекции ВИР, был присвоен интродукционный номер с префиксом «и-», и позже – номер постоянного каталога с префиксом «к-»; с каждого из образцов был также отобран растительный материал для выделения ДНК.

Результаты и обсуждение

Номенклатурные стандарты сортов картофеля, выведенных в Камчатском НИИСХ и в ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки. При сопоставлении данных о морфологических признаках переданных в ВИР клубней (и позднее – признаков световых ростков) с информацией, указанной в официальных сопроводительных документах каждого сорта (см. Приложения 1,2/ Supplements 1,2), противоречий не выявлено.

На гербарных листах образцов представлены: фрагмент кожуры и продольный срез клубня, верхняя и средняя части побегов (табл. 1–11). В условиях Северо-Западного федерального округа (г. Пушкин) не все дальневосточные сорта цвели. Высушенные соцветия и цветки размещены на гербарных листах сортов ‘Вулкан’, ‘Гейзер’, ‘Казачок’, ‘Камчатка’, ‘Моряк’ и ‘Орион’. Для остального материала фотографии соцветий были высланы в Гербарий ВИР соавторами сортов из Камчатского НИИСХ (‘Северянин’ и ‘Солнышко’) и ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока (‘Дачный’, ‘Смак’).

На гербарных листах также представлены фото одного из клубней, переданных в ВИР соавторами сортов; фото продольного среза этого клубня и отпечаток среза (см. табл. 1–11). На гербарных листах сортов селекции ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока дополнительно были размещены фотографии клубней, сделанные на территории питомника данного института во время сбора материала для передачи в ВИР (см. табл. 3, 4). На гербарных листах также размещены фотографии световых ростков, сформировавшихся на переданных в ВИР клубнях.

В результате проведенных исследований были оформлены 11 номенклатурных стандартов – пяти сортов, выведенных в Камчатском НИИСХ (‘Вулкан’, ‘Гейзер’, ‘Камчатка’, ‘Северянин’, ‘Солнышко’) и шести сортов, выведенных в ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока (‘Дачный’, ‘Казачок’, ‘Моряк’, ‘Орион’, ‘Посейдон’, ‘Смак’), представленных на 16 гербарных листах

(см. табл. 1-11).

Кроме того, в Гербарии ВИР были зарегистрированы пять ваучерных образцов селекционных клонов При-16-02-4, При-16-09-2, При-16-13-2, При-17-05-1, При-17-05-4 селекции ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока. Все зарегистрированные гербарные образцы были переданы на хранение в Гербарий ВИР и снабжены индивидуальными номерами с префиксом «WIR-».

Solanum tuberosum L., сорт ‘Вулкан’ (‘Vulkan’) ®²

Nomenclatural standard: «Происхождение: ГНУ Камчатский научно-исследовательский институт сельского хозяйства. Авторы: Гамолина М.Л., Иващенко А.Д., Ильяшик Т.М., Шерстюкова Т.П. Репродукция: клубень Камчатский НИИСХ; побег НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР», г. Пушкин. Собр.: клубень 28.08.2022 Шерстюкова Т.П.; побег 07.07.2023 Рыбаков Д.А. Опр.: клубень Шерстюкова Т.П.; побег Рыбаков Д.А.; **WIR-108746**» (см. табл. 1).

Примечание. Образец представлен одним гербарным листом. На листе размещены: фото клубня, сделанное в сентябре 2022 г.; фото светового ростка – в марте 2023 г.; фото цветка – в июле 2023 г.

Solanum tuberosum L., сорт ‘Гейзер’ (‘Gejzer’) ®

Nomenclatural standard: «Происхождение: ГНУ Камчатский научно-исследовательский институт сельского хозяйства Россельхозакадемии. Авторы: Гамолина М.Л., Иващенко А.Д., Шерстюкова Т.П. Репродукция: клубень Камчатский НИИСХ; побег НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР», г. Пушкин. Собр.: клубень 28.08.2022 Шерстюкова Т.П.; побег 07.07.2023 Рыбаков Д.А. Опр.: клубень Шерстюкова Т.П.; побег Рыбаков Д.А.; **WIR-108747**» (см. табл. 2).

Примечание. Гербарный образец представлен одним листом. На листе также размещены: фото клубня, сделанное в сентябре 2022 г.; фото светового ростка – в марте 2023 г., фото соцветий – в июле 2023 и 2024 гг.

Solanum tuberosum L., сорт ‘Дачный’ (‘Dačnyj’) ®

Nomenclatural standard: «Происхождение: ГНУ Приморский НИИСХ. Авторы: Вознюк В.П., Волик Н.М., Ильяшик Т.М., Новоселов А.К., Новоселова Л.А. Репродукция: клубень ФГБНУ «ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки»; побег НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР», г. Пушкин. Собр.: клубень 17.08.2022 Ким И.В.; побег 04.07.2023 Рыбаков Д.А. Опр.: клубень Ким И.В.; побег Рыбаков Д.А.; **WIR-108751**» (см. табл. 3).

Примечание. Образец представлен двумя гербарными листами. На листе также размещены: фото цветка, сделанное в июле 2023 г., фото клубня – в августе 2022 г., фото светового ростка – в апреле 2023 г., фото клубней, предоставленное Ким И.В. – август 2022 г., фото соцветия, предоставленное Ким И.В.

² здесь и далее значком ® отмечены сорта, охраняемые патентами на селекционные достижения.

Solanum tuberosum L., сорт 'Казачок' ('Kazačok') ®

Nomenclatural standard: «Происхождение: ФГБНУ «Приморский научно-исследовательский институт сельского хозяйства». Авторы: Вознюк В.П., Волик Н.М., Ильяшик Т.М., Ким И.В., Новоселов А.К., Новоселова Л.А. Репродукция: клубень ФГБНУ «ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки»; побег НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР», г. Пушкин. Собр.: клубень 17.08.2022 Ким И.В.; побег 26.07.2023 Рыбаков Д.А. Опр.: клубень Ким И.В.; побег Рыбаков Д.А.; **WIR-108752**» (см. табл. 4).

Примечание. Образец представлен одним гербарным листом. На листе также размещены: фото соцветия, сделанное в июле 2023 г., фото клубня – в августе 2022 г., фото светового ростка – в марте 2023 г., фото клубней, предоставленное Ким И.В. – август 2022 г.; разобранный на составные части цветок и его фото – июль 2024 г.

Solanum tuberosum L., сорт 'Камчатка' ('Kamčatka') ®

Nomenclatural standard: «Происхождение: ГНУ Камчатский научно-исследовательский институт сельского хозяйства. Авторы: Гамolina М.Л., Кирсанова Э.В., Шерстюкова Т.П. Репродукция: клубень Камчатский НИИСХ; побег НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР», г. Пушкин. Собр.: клубень 28.08.2022 Шерстюкова Т.П.; побег 14.07.2023 Рыбаков Д.А. Опр.: клубень Шерстюкова Т.П.; побег Рыбаков Д.А.; **WIR-108748**» (см. табл. 5).

Примечание. Образец представлен двумя гербарными листами. На листе также размещены: фото клубня, сделанное в сентябре 2022 г., фото светового ростка – в апреле 2023 г., фото соцветия, предоставленное Ивашенко А.Д.

Solanum tuberosum L., сорт 'Моряк' ('Morâk') ®

Nomenclatural standard: «Происхождение: ФГБНУ «ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки». Авторы: Вознюк В.П., Волик Н.М., Ильяшик Т.М., Ким И.В., Новоселов А.К., Новоселова Л.А. Репродукция: клубень ФГБНУ «ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки»; побег НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР», г. Пушкин. Собр.: клубень 17.08.2022 Ким И.В.; побег 07.07.2023 Рыбаков Д.А. Опр.: клубень Ким И.В.; побег Рыбаков Д.А.; **WIR-108753**» (см. табл. 6).

Примечание. Образец представлен одним гербарным листом. На листе также размещены: фотографии соцветий, сделанные в июле 2023 и 2024 гг., фото клубня – в январе 2023 г., фото светового ростка – в апреле 2023 г.; конверт с гербаризированными цветками репродукции 2024 г.; разобранные на составные части цветки – репродукция 2024 г.

Solanum tuberosum L., сорт 'Орион' ('Orion')

Nomenclatural standard: «Происхождение: ФГБНУ «ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки». Авторы: Вознюк В.П., Ким И.В., Аникина О.В., Волков Д.И., Гисюк А.А., Чиканова Е.Р. Репро-

дукция: клубень ФГБНУ «ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки»; побег НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР», г. Пушкин. Собр.: клубень 17.08.2022 Ким И.В.; побег 14.07.2023 Рыбаков Д.А. Опр.: клубень Ким И.В.; побег Рыбаков Д.А.; **WIR-108755**» (см. табл. 7).

Примечание. Образец представлен двумя гербарными листами. На листе также размещены: фото цветка, сделанное в июле 2023 г., фото клубня – в январе 2023 г., фото световых ростков – в апреле 2023 г.

Solanum tuberosum L., сорт 'Посейдон' ('Posejdon')

Nomenclatural standard: «Происхождение: ФГБНУ «ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки». Авторы: Вознюк В.П., Ким И.В., Аникина О.В., Волков Д.И., Гисюк А.А., Чиканова Е.Р. Репродукция: клубень ФГБНУ «ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки»; побег НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР», г. Пушкин. Собр.: клубень 17.08.2022 Ким И.В.; побег 14.07.2023 Рыбаков Д.А.; Опр.: клубень Ким И.В.; побег Рыбаков Д.А.; **WIR-108756**» (см. табл. 8).

Примечание. Образец представлен двумя гербарными листами. На листе также размещены: фото соцветия, сделанное в июле 2023 г., фото клубня – в январе 2023 г., фото световых ростков – в марте 2023 г. На втором листе представлены: разобранный на составные части цветок и его фото – июль 2024 г.; конверт с гербаризированными цветками – июль 2024 г.

Solanum tuberosum L., сорт 'Северянин' ('Severânin') ®

Nomenclatural standard: «Происхождение: ФГБНУ «Камчатский научно-исследовательский институт сельского хозяйства». Авторы: Гамolina М.Л., Шерстюкова Т.П. Репродукция: клубень Камчатский НИИСХ; побег НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР», г. Пушкин. Собр.: клубень 28.08.2022 Шерстюкова Т.П.; побег 26.07.2023 Рыбаков Д.А. Опр.: клубень Шерстюкова Т.П.; побег Рыбаков Д.А.; **WIR-108749**» (см. табл. 9).

Примечание. Образец представлен двумя гербарными листами. На листе также размещены: фото клубня, сделанное в сентябре 2022 г., фото светового ростка – в марте 2023 г., фото соцветия, предоставленное Ивашенко А.Д.

Solanum tuberosum L., сорт 'Смак' ('Smak') ®

Nomenclatural standard: «Происхождение: ФГБНУ «Приморский научно-исследовательский институт сельского хозяйства». Авторы: Вознюк В.П., Волик Н.М., Ильяшик Т.М., Ким И.В., Новоселов А.К., Новоселова Л.А. Репродукция: клубень ФГБНУ «ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки»; побег НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР», г. Пушкин. Собр.: клубень 17.08.2022 Ким И.В.; побег 07.07.2023 Рыбаков Д.А.; Опр.: клубень Ким И.В.; побег Рыбаков Д.А.; **WIR-108754**» (см. табл. 10).

Примечание. Образец представлен одним гербарным листом. На листе также размещены: фото соцветия, сделанное в июле 2023 г.,

фото клубня – в январе 2023 г., фото светового ростка – в апреле 2023 г.; смонтированные, разобранные на составные части цветки – репродукция 2024 г.; конверт с гербаризированными цветками репродукции 2024 г.

Solanum tuberosum L., сорт ‘Солнышко’ (‘Solnyško’) ®

Nomenclatural standard: «Происхождение: ГНУ Камчатский научно-исследовательский институт сельского хозяйства. Авторы: Власенко Г.П., Гайнатулина В.В., Гамолина М.Л., Ряховская Н.И., Склярова Н.П., Шерстюкова Т.П. Репродукция: клубень Камчатский НИИСХ; побег НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР», г. Пушкин. Собр.: клубень 28.08.2022 Шерстюкова Т.П.; побег 26.07.2023 Рыбаков Д.А. Опр.: клубень Шерстюкова Т.П.; побег Рыбаков Д.А.; **WIR-108750**» (см. табл. 11).

Примечание. Образец представлен одним гербарным листом. На листе также размещены: фото клубня, сделанное в сентябре 2022 г., фото светового ростка – в марте 2023 г., фото соцветия, предоставленное Иващенко А.Д.

Генетическая паспортизация дальневосточных сортов картофеля. С использованием набора из восьми высокополиморфных SSR-маркеров получены микросателлитные профили пяти сортов, выведенных в Камчатском НИИСХ (‘Вулкан’, ‘Гейзер’, ‘Камчатка’, ‘Северянин’, ‘Солнышко’) и шести сортов, выведенных в ФНЦ агробιοтехнологий Дальнего Востока (‘Дачный’, ‘Казачок’, ‘Моряк’, ‘Орион’, ‘Посейдон’, ‘Смак’) (см. табл. 1-11). В наших предыдущих исследованиях этот же набор SSR-маркеров позволил однозначно идентифицировать более 80 сортов, выведенных в различных селекционных центрах Российской Федерации (Rybakov et al., 2020; 2022; Fomina et al., 2020a; b; Oskina et al., 2023). Сопо-

ставление результатов настоящей работы с ранее полученными данными, подтверждает индивидуальность микросателлитных профилей дальневосточных сортов.

Отметим, что для молекулярно-генетической паспортизации 11 номенклатурных стандартов были использованы 22 препарата ДНК, выделенные из кожуры клубней, переданных соавтором сорта в Гербарий ВИР, и из листьев побегов, сформировавшихся впоследствии на переданных клубнях. Таким образом, каждый номенклатурный стандарт был представлен в SSR-анализе двумя независимо выделенными препаратами ДНК, микросателлитные профили которых полностью совпали у каждого из проанализированных сортов (см. табл. 1-11).

Для идентификации сортов и верификации дублетных образцов, сохраняемых в живом виде в *ex situ* коллекциях, традиционно используют анализ комплекса морфологических признаков сорта (Zaytseva, 1935; 1965) и сравнительно недавно – микросателлитные маркеры (Reid et al., 2011; Lopez-Vizcón, Ortega, 2012; Ivanova-Pozdejeva et al., 2022). В ряде работ для генотипирования зарубежных селекционных сортов картофеля применялись и микросателлитные маркеры, входящие в набор, который мы использовали для генетической паспортизации (Ghebreslassie et al., 2016; Patil et al., 2020; Lee et al., 2021; Rahman et al., 2022; Bhardwaj et al., 2023).

Для повышения эффективности менеджмента образцов в *in vitro* коллекции, из микрорастений семи дальневосточных сортов также была выделена ДНК для проведения SSR-анализа. Для каждого образца, сохраняемого в контролируемых условиях *in vitro*, было подтверждено соответствие его SSR-профиля номенклатурному стандарту соответствующего сорта (Приложение 4a/ Supplement 4a).

Таблица 1. Номенклатурный стандарт и генетический паспорт сорта картофеля 'Вулкан' (WIR-108746)
 Table 1. Nomenclatural standard and genetic passport of potato 'Vulkan' (WIR-108746)

















Присвоение номенклатурного стандарта		Генетический паспорт / Genetic passport							
		Происхождение	ГНУ Камчатский научно-исследовательский институт сельского хозяйства						
		Год внесения в Госреестр	2011						
		Код сорта в Госреестре	9154696						
		№ патента	6601						
		Авторы:	Гамолина М.Л., Иващенко А.Д., Ильяшук Т.М., Шерстюкова Т.П.						
		Метод выведения – сорт получен путем:	Воловецкий × Полесский Розовый						
		SSR локус:	Размер (пн):						
		STG0016	123; 132; 135						
		SH004	79; 88; 94; 100						
		SH032	109; 121; 124						
		SH033	113; 119; 125; 131						
		SH046	191; 194; 200						
		STM0037	72; 80; 86						
		STM2005	154						
		STM5114	280; 289; 295						
		Маркеры R-генов устойчивости к вредным организмам:							
Вредный организм	Gen	PVY	PVX	Phytophthora infestans	Globodera pallida (Pa 2,3)	Globodera rostochiensis (Ro 1)	Тип цитоплазмы		T
							Устойчивость к <i>G. rostochiensis</i> (Ro 1) (Госреестр)		
		<i>Ry_{adg}</i>	<i>Rx1</i>	<i>R3a</i>	<i>Gpa2</i>	<i>H1</i>	N195	+	
		<i>Ry_{sto} / Ry-f_{sto}</i>	1Rx1	<i>R1</i>	Gpa2-2	N146	N146	+	
			5Rx1	<i>RB/ Rpi-blb1</i>	Gro1-4-1	57R	57R	+	
			RYSC3				Gro1-4-1	0	
			GP122-406/EcoRV					0	
			YES3-3B					0	
			Маркер есть (+) / нет (0)						

Таблица 2. Номенклатурный стандарт и генетический паспорт сорта картофеля 'Гейзер' (WIR-108747)
 Table 2. Nomenclatural standard and genetic passport of potato 'Geizer' (WIR-108747)

Генетический паспорт / Genetic passport		Тип цитоплазмы				
Происхождение	ГНУ Камчатский научно-исследовательский институт сельского хозяйства Россельхозакадемии	Устойчивость к <i>G. rostochiensis</i> (Ro 1) (Госреестр)				
Год внесения в Госреестр	2014	<i>Globodera rostochiensis</i> (Ro 1)	<i>H1</i>	N195	+	
Код сорта в Госреестре	8755543		<i>Gro1-4</i>		N146	+
№ патента	7309				57R	+
Авторы:	Гамolina М.Л., Иващенко А.Д., Шерстокова Т.П.	<i>Globodera pallida</i> (Pa 2,3)	<i>Gpa2</i>	Gpa2-2	0	
Метод выведения – сорт получен путем: (* = Fresco)*	104-14-90 × 'Фреско'*		<i>Phytophthora infestans</i>	<i>R3a</i>	RT-R3a	0
SSR локус:	Размер (ш):			<i>R1</i>	R1	0
STG0016	135; 153	<i>RB/</i>		BLB1F/R	0	
SH004	76; 94	PVX	<i>Rpi-blb1</i>	1`1	0	
SH032	109; 121; 124		<i>Rx1</i>		5Rx1	0
SH033	113; 119; 134				1Rx1	0
SH046	188; 194	PVY	<i>Ry_{adg}</i>	RYSC3	0	
STM0037	72		<i>Ry_{sto}/</i>	<i>Ry_{-f_{sto}}</i>	GP122-406/ EcoRV	0
STM2005	166				YES3-3B	0
STM5114	286; 295	Вредный организм	<i>Ген</i>	Маркер есть (+) / нет (0)		
Маркеры R-генов устойчивости к вредным организмам:					D (W/a)	
					R	

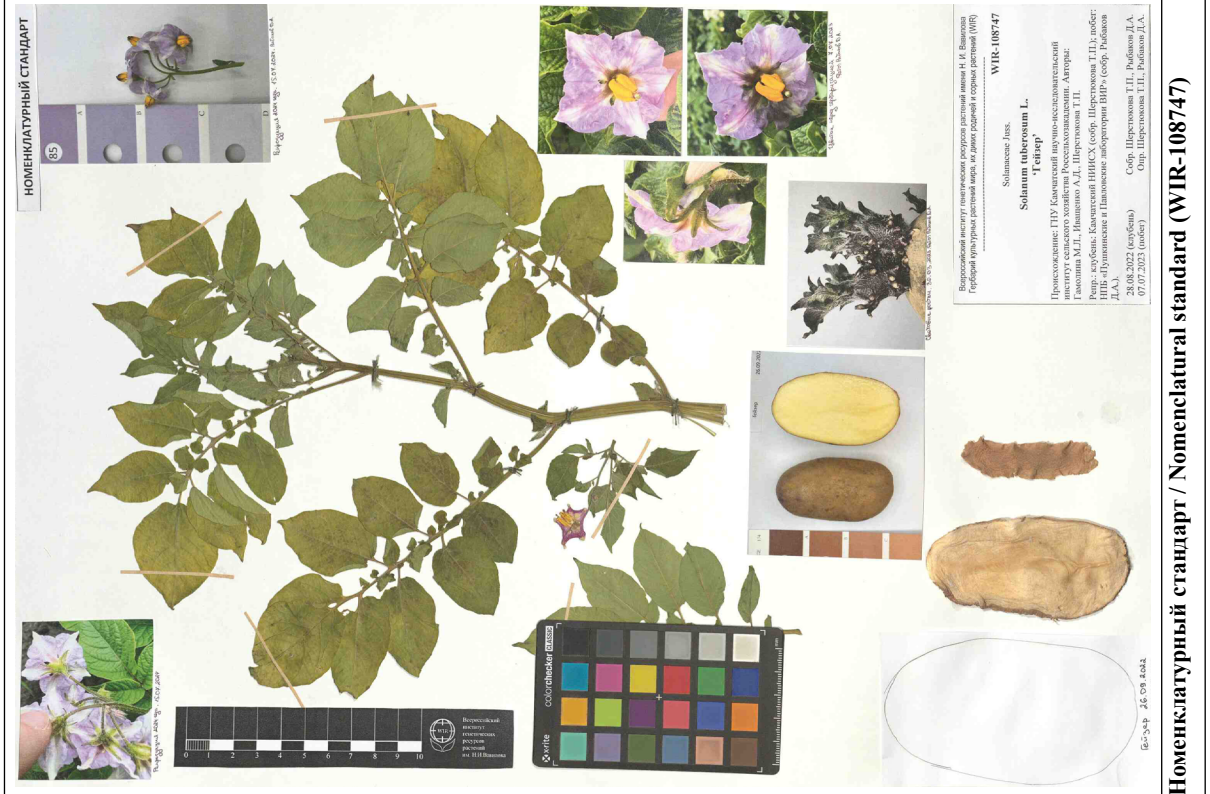


Таблица 3. Номенклатурный стандарт и генетический паспорт сорта картофеля 'Дачный' (WIR-108751)
 Table 3. Nomenclatural standard and genetic passport of potato 'Dachny' (WIR-108751)

Происхождение		Генетический паспорт / Genetic passport			
ГНУ Приморский НИИСХ					
Год внесения в Госреестр		2014			
Код сорта в Госреестре		8954338			
№ патента		6832			
Авторы:		Вознюк В.П., Волик Н.М., Ильяшук Т.М., Новоселов А.К., Новоселова Л.А.			
Метод выведения – сорт получен путем:		'Невский' × Воловецкий			
SSR локус:		Размер (пн):			
STG0016		123; 132; 135			
SH004		76; 94; может появляться дополнительный плохо воспроизводящийся слабый фрагмент размером 73 пн			
SH032		118; 121; 127			
SH033		113; 125; 131			
SH046		191; 194; 203			
STM0037		78; 80; 86; 88			
STM2005		148; 154; 166			
STM5114		280; 286; 295			
		Маркеры R-генов устойчивости к вредным организмам:			
Вредный организм	Gen	PVX	R3a	RT-R3a	+
PVY	Ry _{adg}	RYSC3	5Rx1	0	
					Ry _{sto} /Ry _{f_{sto}}
Globodera rostochiensis (Ro 1)	HI	N195	Gro1-4	Gro1-4-1	
					Globodera pallida (Pa 2,3)
Устойчивость к <i>G. rostochiensis</i> (Ro 1) (Госреестр)					
Тип цитоплазмы					D (W/a)

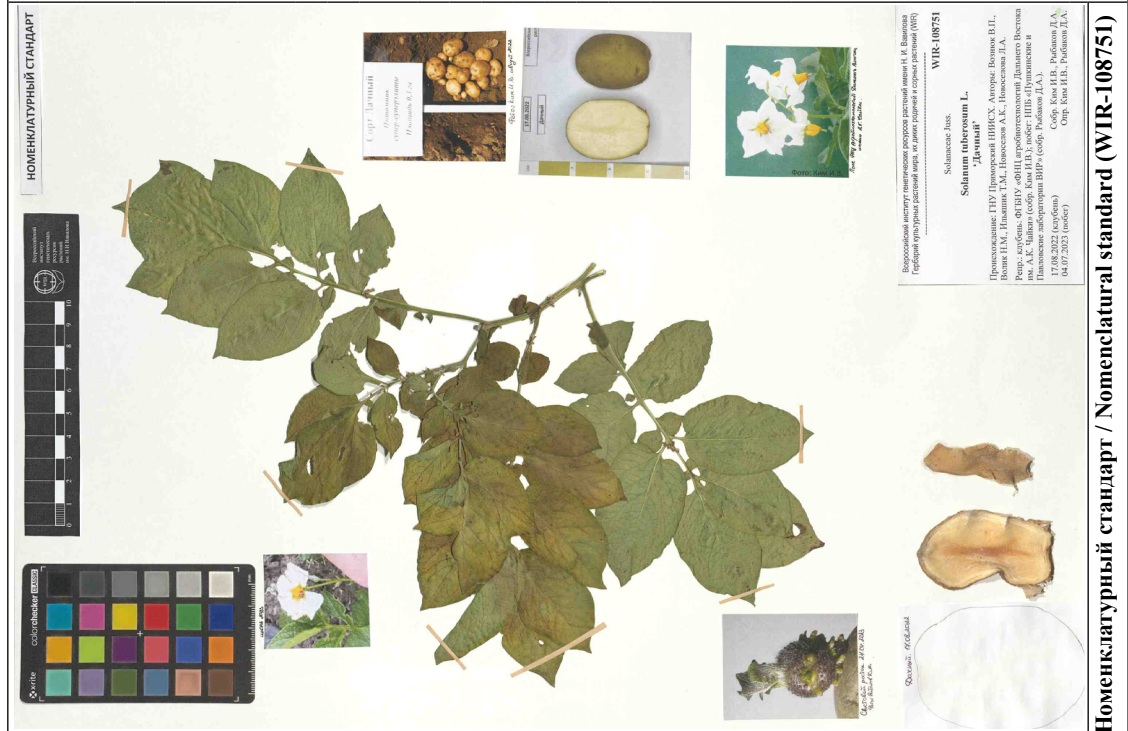


Таблица 5. Номенклатурный стандарт и генетический паспорт сорта картофеля 'Камчатка' (WIR-108748)
 Table 5. Nomenclatural standard and genetic passport of potato 'Kamchatka' (WIR-108748)

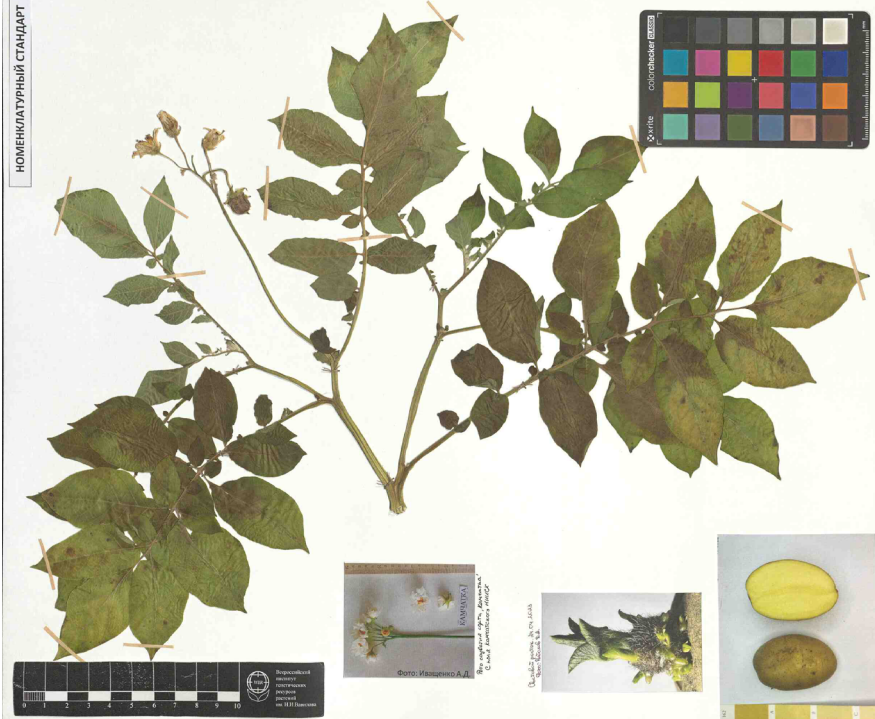


Номенклатурный стандарт		Генетический паспорт / Genetic passport											
		Происхождение ГНУ Камчатский научно-исследовательский институт сельского хозяйства											
		Год внесения в Госреестр 2009											
		Код сорта в Госреестре 9463092											
		№ патента 3841											
		Авторы: Гамалина М.Л., Кирсанова Э.В., Шерстюкова Т.П.											
		Метод выведения – сорт получен путем: 'Ласунак' × 807-4											
		SSR локус: Размер (пн): STG0016 132; 135; 153 StI004 76; 88 StI032 121; 124; 127 StI033 113; 125; 134 StI046 194; 200; 206 STM0037 72; 78; 86 STM2005 154 STM5114 289; 295											
		Тип цитоплазмы D (W/α)											
		Устойчивость к <i>G. rostochiensis</i> (Ro 1) (Госреестр) S											
		Маркеры R-генов устойчивости к вредным организмам:											
Вредный организм	Ген	Phytophthora infestans	<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">Globodera rostochiensis (Ro 1)</th> <th rowspan="2">Gpa2</th> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">RB/ Rpi-blb1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	Globodera rostochiensis (Ro 1)	Gpa2	R3a	R1	RB/ Rpi-blb1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)		Gro1-4	Gro1-4-1
			Globodera rostochiensis (Ro 1)							Gpa2	R3a	R1	RB/ Rpi-blb1
Gro1-4	Gro1-4-1												
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVX	Rx1	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1	RT-R3a R1 YES3-3B	0 0 0	+	+	+						
								<table border="1"> <tr> <th rowspan="2">R3a</th> <th rowspan="2">R1</th> <th rowspan="2">BLB1F/R</th> <th rowspan="2">1'1</th> <th rowspan="2">Rx1</th> <th colspan="2">Globodera pallida (Pa 2,3)</th> </tr> <tr> <th>Gro1-4</th> <th>Gro1-4-1</th> </tr> </table>	R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1
R3a	R1	BLB1F/R	1'1	Rx1	Globodera pallida (Pa 2,3)								
					Gro1-4	Gro1-4-1							
РVY	Ry _{adg} Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	R3a R1 BLB1F/R 1'1											

Таблица 6. Номенклатурный стандарт и генетический паспорт сорта картофеля 'Моряк' (WIR-108753)
 Table 6. Nomenclatural standard and genetic passport of potato 'Morák' (WIR-108753)

Генетический паспорт / Genetic passport					
Происхождение	ФГБНУ «ФНЦ агротехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки»				
Год внесения в Госреестр	2024				
Код сорта в Госреестре	7852999				
№ патента	13475				
Авторы:	Вознюк В.П., Волик Н.М., Ильяшук Т.М., Ким И.В., Новоселов А.К., Новоселова Л.А.				
Метод выведения – сорт получен путем:	'Росинка' × 'Жаворонок'				
SSR локус:	Размер (ш):				
STG0016	123; 132; 135				
StI004	76; 94				
StI032	121; 124				
StI033	113; 131				
StI046	179; 197; 203; 206				
STM0037	72; 78				
STM2005	148; 154				
STM5114	286; 295				
Маркеры R-генов устойчивости к вредным организмам:					
Вредный организм	Gen	Маркер есть (+) / нет (0)	Тип цитоплазмы		D (W/α)
			Устойчивость к <i>G. rostochiensis</i> (Ro 1) (Госреестр)		
PVY	Ry _{adg}	RYSC3	R1	RT-R3a	+
PVX	Rx1	5Rx1	R3a	RT-R3a	+
Globodera pallida (Pa 2,3)	Gpa2	Gpa2-2	Gro1-4	Gro1-4-1	0
N146	57R	0	0	0	0

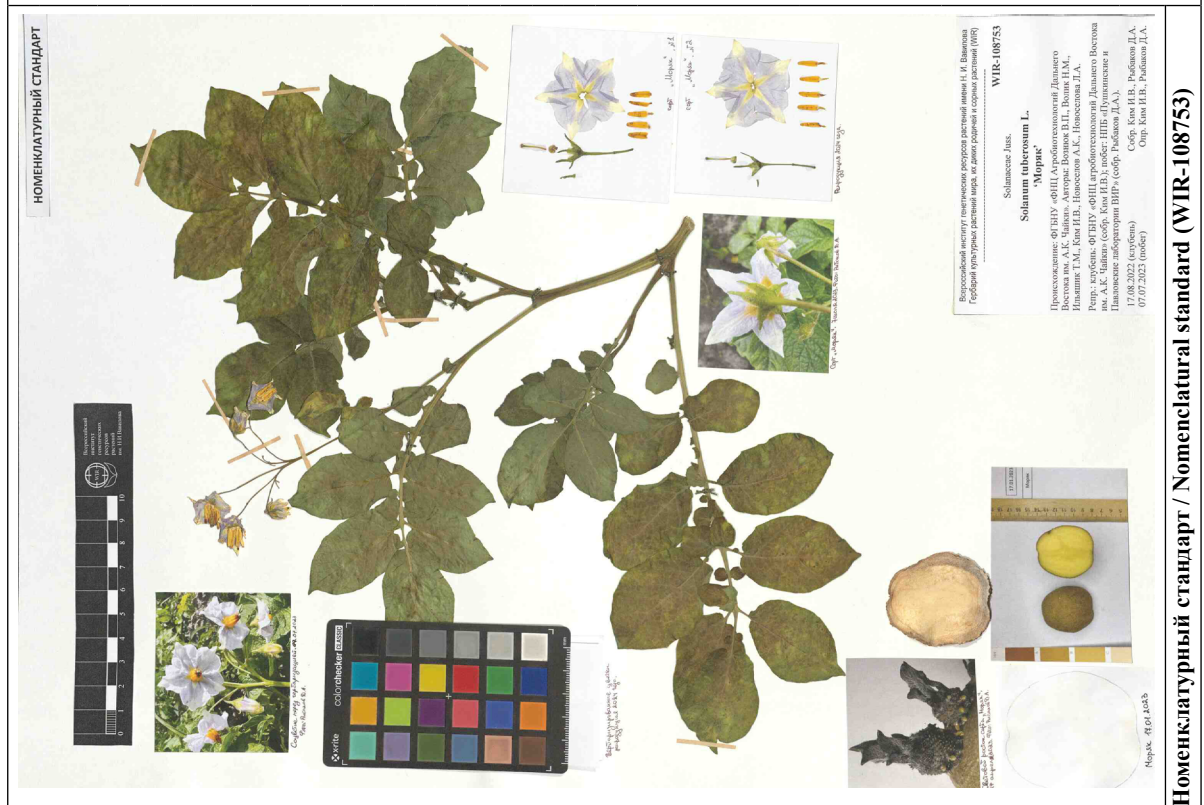


Таблица 7. Номенклатурный стандарт и генетический паспорт сорта картофеля 'Орион' (WIR-108755)
 Table 7. Nomenclatural standard and genetic passport of potato 'Orion' (WIR-108755)

Генетический паспорт / Genetic passport		Тип цитоплазмы						
Происхождение	ФГБНУ «ФНЦ агробιοтехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки»	Устойчивость к <i>G. rostochiensis</i> (Ro 1) (Госреестр)						
Год внесения в Госреестр	2024	<i>Globodera rostochiensis</i> (Ro 1)	H1	N195	+			
Код сорта в Госреестре	7754775			N146	+			
№ патента	—			57R	+			
Авторы:	Вознюк В.Л., Ким И.В., Аникина О.В., Волков Д.И., Гиснок А.А., Чиканова Е.Р.	<i>Globodera pallida</i> (Pa 2,3)	Gpa2	Gro1-4-1	0			
Метод выведения – сорт получен путем:	'Очарование' × 'Gala'			Gpa2-2	0			
SSR локус:	Размер (пн):	<i>Phytophthora infestans</i>	R3a	RT-R3a	+			
STG0016	123; 135; 153					R1	R1	0
StI004	76; 94; 100							
StI032	118; 121; 124	1'1	0					
StI033	113; 131			Rx1	5Rx1	0		
StI046	191; 194; 203						1Rx1	0
STM0037	72; 74; 78	Ry _{adg}	RYSC3					
STM2005	154			Ry _{sto} / Ry-f _{sto}	GP122-406/EcoRV	0		
STM5114	286; 295						YES3-3B	0
Вредный организм	Маркеры R-генов устойчивости к вредным организмам:	Маркер есть (+) / нет (0):						
Gen								

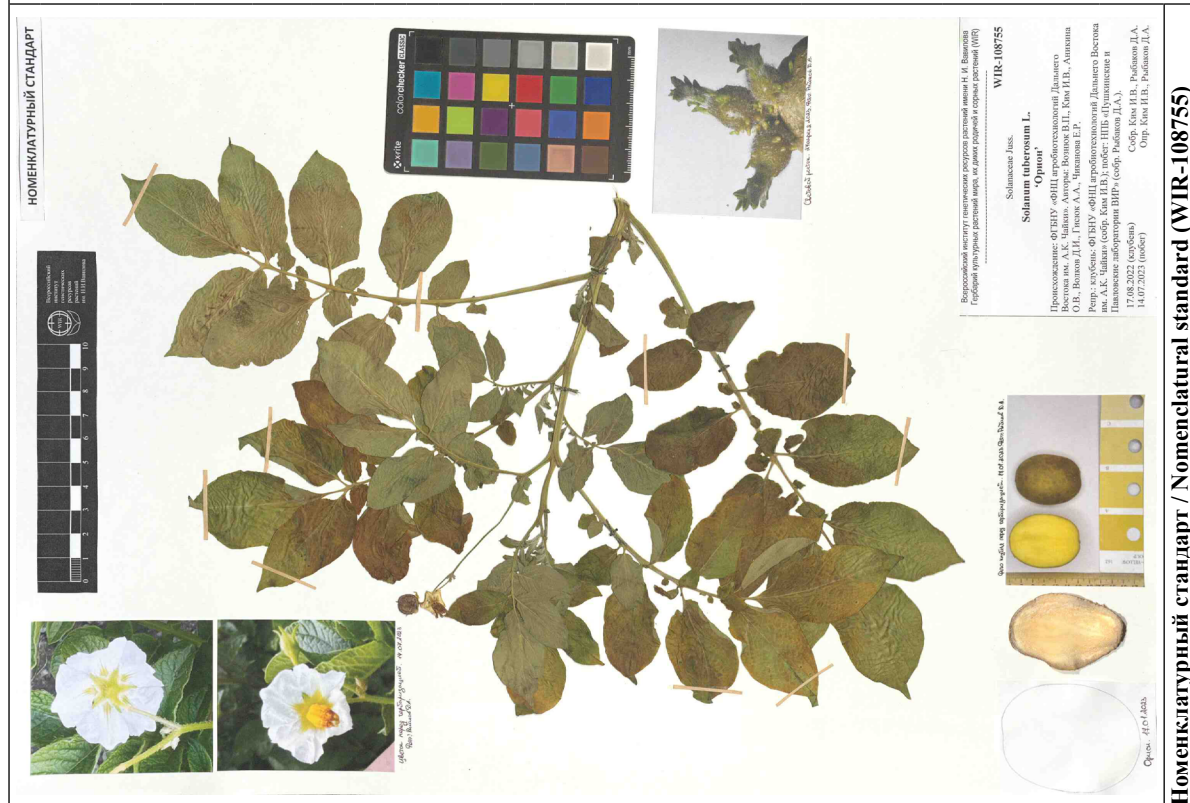


Таблица 9. Номенклатурный стандарт и генетический паспорт сорта картофеля 'Северянин' (WIR-108749)
 Table 9. Nomenclatural standard and genetic passport of potato 'Severânin' (WIR-108749)

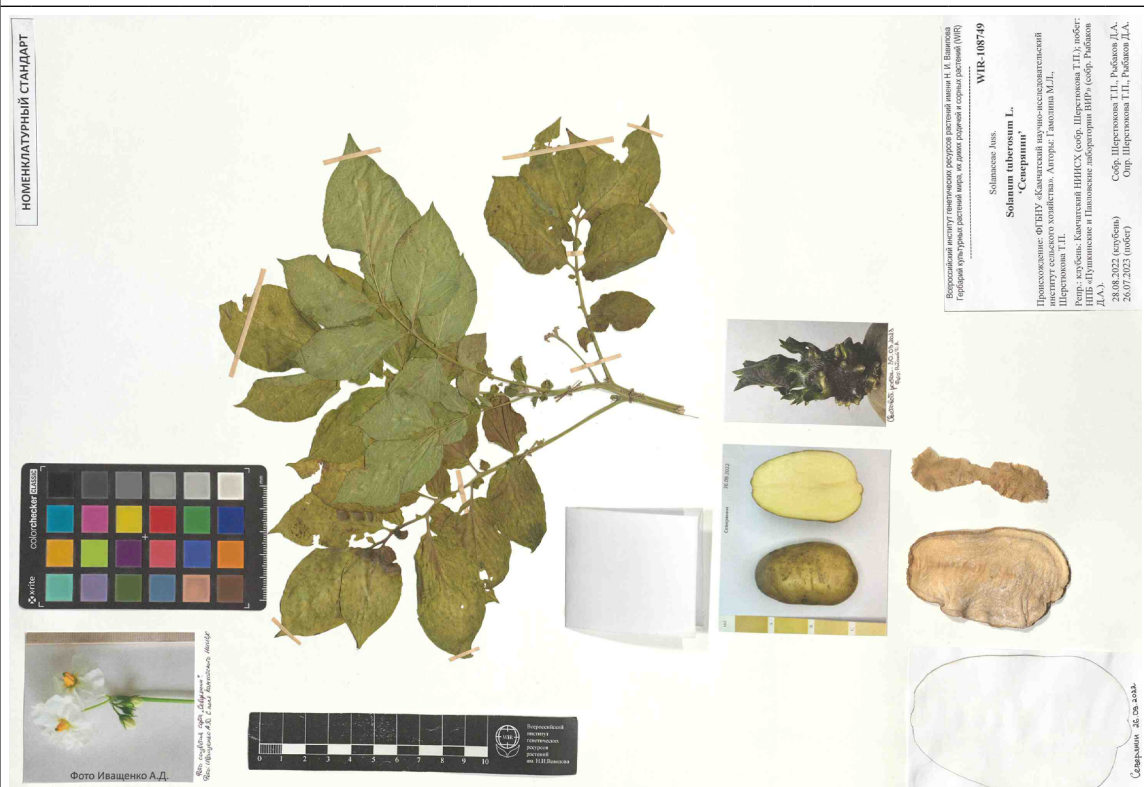

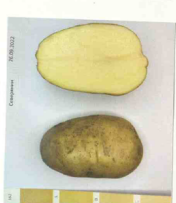

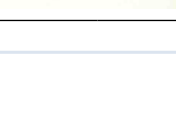

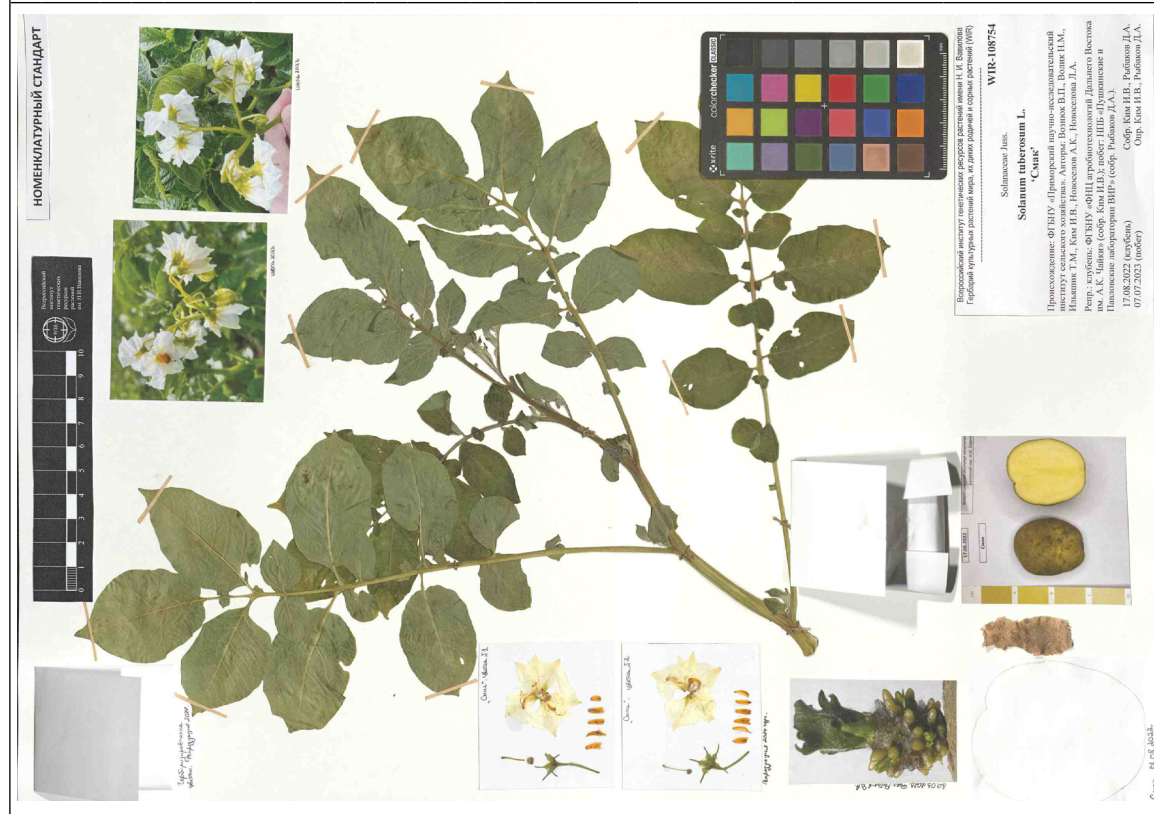
Номенклатурный стандарт		Генетический паспорт / Genetic passport													
		ФГБНУ «Камчатский научно-исследовательский институт сельского хозяйства»													
		2020													
		8260954													
		11182													
		Гамалина М.Л., Шерстокова Т.П.													
		Кемеровский × Посвит (Sherstyukova, Gamolina, 2019)													
		Размер (мм):													
		123; 132; 135													
		76; 88; 100													
		121; 124; 130													
		113; 131													
		179; 194; 200; 206													
		72; 74; 78													
		154; 166													
		295; может появляться дополнительный плохो воспроизводящийся слабый фрагмент размером 283 пп.													
		Маркеры R-генов устойчивости к вредным организмам:													
Вредный организм	Gen	PVX	PYY	Ry _{adg}	Ry _{sto} /Ry _{f_{sto}}	Ry _{f_{sto}}	R3a	R1	RB/Rpi-blb1	Gpa2	Gro1-4	H1	Тип цитоплазмы		
													5Rх1	1Rx1	57R
														Устойчивость к <i>G. rostochiensis</i> (Ro 1) (Госреестр)	R
															T

Таблица 10. Номенклатурный стандарт и генетический паспорт сорта картофеля 'Смак' (WIR-108754)
 Table 10. Nomenclatural standard and genetic passport of potato 'Smak' (WIR-108754)

Генетический паспорт / Genetic passport		Тип цитоплазмы				
Происхождение	ФГБНУ «Приморский научно-исследовательский институт сельского хозяйства»	Устойчивость к <i>G. rostochiensis</i> (Ro 1) (Госреестр)				
Год внесения в Госреестр	2016	<i>Globodera rostochiensis</i> (Ro 1)	H1	N195	+	
Код сорта в Госреестре	8757381		Gro1-4	N146	N146	+
№ патента	8203			57R	57R	+
Авторы:	Вознюк В.П., Волик Н.М., Ильяшик Т.М., Ким И.В., Новоселов А.К., Новоселова Л.А.	<i>Globodera pallida</i> (Pa 2,3)	Gpa2	Gpa2-2	+	
Метод выведения – сорт получен путем:	'Петербургский' × 'Шурминский' (данные из анкеты сорта; 'Шурминский-2' – по уточненной информации авторов)	<i>Phytophthora infestans</i>	R3a	RT-R3a	0	
SSR локус:	Размер (пш):		R1	R1	0	
STG0016	132; 135; 153		RB/	BLB1F/R	0	
Stf004	76; 94	Rpi-blb1	1`1	1`1	0	
Stf032	118; 121; 127		PVX	Rx1	5Rx1	+
Stf033	113; 131; 134	PVY	Ry _{adg}	RYSC3	0	
Stf046	188; 197; 206		Ry _{sto} /	GP122-406/EcoRV	0	
STM0037	72; 88	Вредный организм	Ry-f _{sto}	YES3-3B	0	
STM2005	148; 154		Ген	Маркер есть (+) / нет (0)		
STM5114	286; 295	Маркеры R-генов устойчивости к вредным организмам:				



Номенклатурный стандарт / Nomenclatural standard (WIR-108754)

Таблица 11. Номенклатурный стандарт и генетический паспорт сорта картофеля 'Солнышко' (WIR-108750)
 Table 11. Nomenclatural standard and genetic passport of potato 'Solnyško' (WIR-108750)

Генетический паспорт / Genetic passport		Тип цитоплазмы				
Происхождение	ГНУ Камчатский научно-исследовательский институт сельского хозяйства	Устойчивость к <i>G. rostochiensis</i> (Ro 1) (Госреестр)				
Год внесения в Госреестр	2009	<i>Globodera rostochiensis</i> (Ro 1)	<i>H1</i>	N195	0	
Код сорта в Госреестре	9553055		<i>Gro1-4</i>	N146	0	
№ патента	3047			57R	0	
Авторы:	Власенко Г.П., Гайнагулина В.В., Гамоллина М.Л., Ряховская Н.И., Склярова Н.П., Шерстокова Т.П.	<i>Globodera pallida</i> (Pa 2,3)	<i>Gpa2</i>	Gpa2-2	0	
Метод выведения – сорт получен путем:	'Прикульский ранний' × 'Гидра' (* = 'Нудра')		<i>Phytophthora infestans</i>	<i>R3a</i>	RT-R3a	0
SSR локус:	Размер (пн):			<i>R1</i>	<i>R1</i>	0
STG0016	132; 135	<i>RB/</i>			BLB1F/R	0
SH004	76	<i>Rpi-blb1</i>	<i>Г1</i>	0		
SH032	121; 124; 127		<i>Rx1</i>	5Rx1	0	
SH033	113; 122; 131	<i>Ry_{adg}</i>	1Rx1	0		
SH046	191; 200; 206		<i>Ry_{sto}/</i>	RYSC3	0	
STM0037	72; 78; 80	<i>Ry_{f_{sto}}</i>		GP122-406/EcoRV	0	
STM2005	154; 166		Ген	YES3-3B	0	
STM5114	286; 295; 304	Вредный организм		Маркер есть (+) / нет (0)		
Маркеры R-генов устойчивости к вредным организмам:			<i>PVX</i>			
		<i>PVY</i>				

Номенклатурный стандарт	
<p>Номенклатурный стандарт</p> <p>Сорт: Солнышко</p> <p>Фото: Ивашченко А.Д., 2019</p> <p>Сорт: Солнышко</p> <p>28.08.2022 (луковица)</p> <p>26.07.2022 (листья)</p> <p>Солнышко, 28.08.2022</p>	<p>Селекционер: Ивашченко А.Д.</p> <p>WIR-108750</p> <p><i>Solanum tuberosum</i> L. 'Солнышко'</p> <p>Происхождение: ГНУ Камчатский научно-исследовательский институт сельского хозяйства. Авторы: Власенко Г.П., Гайнагулина В.В., Гамоллина М.Л., Ряховская Н.И., Склярова Н.П., Шерстокова Т.П.</p> <p>Родительские сорта: Камчатский ВИРСХ (Шерстокова Т.П.), объект ИВБ «Путь к успеху» и Палосские лаборатории ВПР (собр. Рыбаков Д.А.).</p> <p>Собр.: Шерстокова Т.П., Рыбаков Д.А., Собр.: Шерстокова Т.П., Рыбаков Д.А.</p>

Наличие одноименных сортов, созданных разными селекционерами в разных учреждениях, создает определенные проблемы при поддержании коллекций, а также при анализе опубликованных данных. Поэтому так важно документировать селекционное достижение, создавая номенклатурный стандарт сорта в соответствии с правилами и рекомендациями Международного кодекса номенклатуры культурных растений (МКНКР – ICNCP) (Brickell et al., 2016), который призван содействовать точности и стабильности в наименовании сельскохозяйственных растений.

Данную проблему можно проиллюстрировать наличием одноименных образцов селекции трех различных учреждений, каждый из которых получил название ‘Северянин’ (Приложение 5/ Supplement 5). Старый сорт ‘Северянин’ селекции СибНИИСХ в настоящее время в полевой коллекции отдела генетических ресурсов картофеля (ОГРК) ВИР отсутствует, но в полевой коллекции Полярной опытной станции (ПОС ВИР) – филиале ВИР – сохраняется селекционный клон с таким же названием.

В полевой коллекции ВИР также сохраняется старый сорт ‘Солнышко’ (к-10762); по информации, полученной от куратора коллекции сортов картофеля ВИР к.с.-х.н. О.С. Косаревой (личное сообщение), этот образец был прислан в Пушкинские лаборатории ВИР в 1979 году из Екатеринбургской опытной станции – филиала ВИР. По данным куратора коллекции картофеля этой станции Кирпичевой Т.В. (личное сообщение), данный сорт был выведен на Екатеринбургской ОС ВИР.

Одноименные образцы дальневосточных сортов, сохранившиеся в полевой коллекции ВИР – к-24744 селекционного клона ‘Северянин’, выведенного на ПОС ВИР, и образец к-10762 старого сорта ‘Солнышко’, селекции Екатеринбургской ОС ВИР, также были включены в SSR-анализ. Как и ожидалось, их микросателлитные профили для большинства SSR-локусов существенно отличались от номенклатурных стандартов WIR-108749 сорта ‘Северянин’ и WIR-108750 сорта ‘Солнышко’, выведенных в Камчатском НИИСХ (Приложение 4b/ Supplement 4b).

Результаты молекулярного скрининга. Маркеры генов, контролирующих устойчивость к вредным организмам, вместе с маркерами разных «типов» цитоплазм позволили получить дополнительную информацию об участии в родословных изучаемых дальневосточных сортов межвидовых гибридов или сортов гибридного происхождения. Так, среди одиннадцати проанализированных сортов, шесть обладали D-типом цитоплазмы мексиканского дикого вида *Solanum demissum* Lindl. (Dionne, 1961; Irikura, 1968; Song, Schwarzfischer, 2008; Hosaka, Sanetomo, 2012; Gavrilenko et al., 2019) и пять – с T-типом цитоплазмы, характерным для чилийских образцов культурного картофеля. У четырех образцов, ‘Дачный’, ‘Моряк’, ‘Орион’, ‘Посейдон’, с D-типом цитоплазмы детектированы и маркеры ядерного гена *R3a*, контролирующего расоспецифичную устойчивость к фитофторозу,

которая в селекционный генофонд также была интрогрессирована от *S. demissum*. Данные родословных дальневосточных сортов подтверждают совпадение типа цитоплазмы этих сортов с типом цитоплазмы их материнской формы.

У изученных дальневосточных сортов не обнаружен A-тип цитоплазмы, характерный для культурного вида *Solanum andigenum* Juz. et. Buk. и маркер, ассоциированный с ядерным геном устойчивости к Y вирусу картофеля – Ry_{adg} , интрогрессированный в селекционный генофонд от этого культурного вида.

У изученных дальневосточных сортов также не обнаружены ни маркеры генов устойчивости к Y вирусу Ry_{sto} , $Ry-f_{sto}$, ни W/gamma «тип» цитоплазмы. Можно полагать, что в их происхождении не принимали участия сорта и/или гибриды, созданные с участием *Solanum stoloniferum* Schldl. (Flis et al., 2005; Song, Schwarzfischer, 2008; Antonova et al., 2018; Gavrilenko et al., 2019).

Исключением является сорт ‘Посейдон’, у которого детектированы внутривидовые маркеры BLBIF/R и 1’/1 гена *RB/Rpi-blb1*, участвующего в контроле устойчивости растений к широкому спектру рас *Phytophthora infestans* Mont. de Bary (см. табл. 8). Согласно литературным данным, эти маркеры в редких случаях могут быть выявлены у ряда сортов, выведенных с участием гибридных селекционных клонов или родительских форм сортов гибридного происхождения, созданных с участием диких мексиканских видов, например, *S. stoloniferum* (Gavrilenko et al., 2018; Antonova et al., 2018).

В отдельных случаях мы затрудняемся выделить источники определенных маркеров у изученных дальневосточных сортов. Так, например, у сорта ‘Смак’, созданного на основе скрещивания сортов ‘Петербургский’ × ‘Шурминский-2’ детектирован маркер *Gpa2-2* гена *Gpa2* устойчивости к бледной картофельной нематоды (см. табл. 10), однако в наших предыдущих исследованиях этот маркер не был выявлен у родительских форм (Gavrilenko et al., 2018; Klimenko et al., 2019). Мы не исключаем возможности, что в процессе выведения новых сортов в отдельных случаях в скрещиваниях могло быть неконтролируемое переопыление материнской формы.

Результаты молекулярного скрининга с маркерами генов, контролирующими устойчивость к патотипу Ro1 золотистой цистообразующей картофельной нематоды (ЗКН). Согласно Госреестру, по результатам фитопатологического анализа, сорта ‘Вулкан’, ‘Дачный’, ‘Казачок’, ‘Камчатка’, ‘Смак’, ‘Солнышко’ восприимчивы к ЗКН (State Register..., 2024). Согласно справкам ВНИИКХ им. А.Г. Лорха о проведении государственного испытания гибридов картофеля, устойчивостью к ЗКН обладают два сорта ‘Гейзер’ и ‘Северянин’ селекции Камчатского НИИСХ. Оба сорта ещё не прошли ГСИ, но имеют патенты (см. Приложение 2/Supplement 2). Согласно справкам ФИЦ картофеля им. А.Г. Лорха о государственном

испытании, устойчивыми также являются сорта ‘Орион’ и ‘Посейдон’. На момент публикации настоящей статьи отсутствует информация об этих сортах на сайте Госреестра.

По данным проведенного нами молекулярного скрининга, маркеры гена *HI* выявлены у шести сортов: ‘Вулкан’, ‘Гейзер’, ‘Камчатка’, ‘Орион’, ‘Посейдон’, ‘Смак’. Ни один из изученных образцов не обладал маркером второго гена *Grol-4*, также участвующего в контроле устойчивости к патотипу Ro1 ЗКН.

Таким образом, из 11 дальневосточных образцов только в семи случаях результаты молекулярного скрининга совпали с данными фитопатологического анализа на устойчивость к ЗКН, патотипу Ro1, хотя ранее высокую диагностическую ценность используемых нами маркеров гена *HI* отмечали в молекулярном скрининге как зарубежных (Schultz et al., 2012), так и отечественных (Klimenko et al., 2017) сортов. В отдельных случаях такое несоответствие может объясняться разными подходами к оценке устойчивости растений к ЗКН (Simakov et al., 2009). Например, сорт ‘Вулкан’, обладающий маркерами гена *HI*, является восприимчивым к ЗКН согласно данным Госреестра (State Register..., 2024), хотя согласно справке из Всероссийского пункта по испытанию картофеля на устойчивость к раку и нематоду отнесен к слабо поражаемым.

Для сортов селекции Камчатского НИИСХ молекулярный скрининг проведен впервые. Для отдельных образцов сортов селекции ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока молекулярный скрининг ранее проводили, но с меньшим числом маркеров (Fisenko et al., 2022; 2023; Kim, Klyukov, 2023). Наши данные молекулярного скрининга номенклатурных стандартов согласуются с ранее полученными результатами П.В. Фисенко с соавторами, которые использовали те же маркеры гена *HI* и маркер гена *Gpa2* для образцов сортов ‘Казачок’ и ‘Смак’ (Fisenko et al., 2022). В то же время для сорта ‘Дачный’ наши результаты, а именно отсутствие у этого сорта маркеров генов *HI* и *Gpa2*, не совпадают с данными этих авторов – наличие маркеров N195 и *Gpa2-2* у проанализированного ими образца сорта ‘Дачный’ (Fisenko et al., 2022), что еще раз указывает на необходимость оформления номенклатурных стандартов сортов и их генетической паспортизации.

Информация о поступлениях дополнительных образцов картофеля в гербарий ВИР представлена в Приложении 6/ Supplement 6. Гербарные образцы сортов, предсортов и селекционных клонов были собраны либо селекционерами, участвовавшими в их создании (образцы 9-13), либо ведущими специалистами страны в области изучения сортового генофонда картофеля, кураторами коллекции селекционных сортов картофеля ВИР (образцы 1-8).

Заключение

В результате проведенных исследований были оформ-

лены номенклатурные стандарты шести сортов, созданных в ФГБНУ «ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки»: ‘Дачный’ (WIR-108751), ‘Казачок’ (WIR-108752), ‘Моряк’ (WIR-108753), ‘Орион’ (WIR-108755), ‘Посейдон’ (WIR-108756), ‘Смак’ (WIR-108754) и пяти сортов селекции Камчатского НИИСХ (в настоящее время филиал ВИР): ‘Вулкан’ (WIR-108746), ‘Гейзер’ (WIR-108747), ‘Камчатка’ (WIR-108748), ‘Северянин’ (WIR-108749), ‘Солнышко’ (WIR-108750). Все зарегистрированные гербарные листы были переданы в Гербарий культурных растений мира, их диких родичей и сорных растений (WIR) для регистрации и сохранения в типовом фонде. С использованием восьми SSR-маркеров для каждого номенклатурного стандарта разработан генетический паспорт. В генетические паспорта занесены результаты молекулярного скрининга – информация о наличии-отсутствии у изученных дальневосточных сортов 14 маркеров, ассоциированных с 10 генами, контролирующими устойчивость к различным вредным организмам, и информация о типах цитоплазм этих сортов. В *in vitro* коллекции ВИР сохраняются девять образцов, генетически идентичных номенклатурным стандартам сортов – ‘Гейзер’, ‘Дачный’, ‘Казачок’, ‘Камчатка’, ‘Моряк’, ‘Орион’, ‘Посейдон’, ‘Смак’, ‘Солнышко’.

References/Литература

- Ahmadvand R., Wolf I., Gorji A.M., Polgár Z., Taller J. Development of molecular tools for distinguishing between the highly similar *Rx1* and *Rx2* PVX extreme resistance genes in tetraploid potato. *Potato Research*. 2013;56(4):277-291. DOI: 10.1007/s11540-013-9244-y
- Alexeeva N.B., Chukhina I.G. Nomenclatural standards of iris cultivars bred at the Peter the Great Botanical Garden of the V.L. Komarov Botanical Institute of RAS. *Vavilovia*. 2024;7(1):3-9. [in Russian] (Алексеева Н.Б., Чухина И.Г. Номенклатурные стандарты сортов ирисов селекции Ботанического сада Петра Великого Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН. *Vavilovia*. 2024;7(1):3-9). DOI: 10.30901/2658-3860-2024-1-03
- Antonova O.Y., Klimenko N.S., Evdokimova Z.Z., Kostina L.I., Gavrilenko T.A. Finding *RB/Rpi-blb1/Rpi-stol*-like sequences in conventionally bred potato varieties. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(6):693-702. DOI: 10.18699/VJ18.412
- Antonova O.Yu., Klimenko N.S., Rybakov D.A., Fomina N.A., Zheltova V.V., Novikova L.Yu., Gavrilenko T.A. SSR analysis of modern Russian potato varieties using DNA samples of nomenclatural standards. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2020;3(4):77-96. [in Russian] (Антонова О.Ю., Клименко Н.С., Рыбаков Д.А., Фомина Н.А., Желтова В.В., Новикова Л.Ю., Гавриленко Т.А. SSR-анализ современных российских сортов картофеля с использованием ДНК номенклатурных стандартов. *Биотехнология и селекция растений*. 2020;3(4):77-96). DOI: 10.30901/2658-6266-2020-4-02
- Asano K., Kobayashi A., Tsuda S., Nishinaka M., Tamiya S. DNA marker-assisted evaluation of potato genotypes for potential resistance to potato cyst nematode pathotypes not yet invading into Japan. *Breeding Science*. 2012;62(2):142-150. DOI: 10.1270/jsbbs.62.142
- Bagmet L.V., Shlyavas A.V. Nomenclatural standards of apple cultivars bred at the Pavlovsk experiment station of VIR. *Vavilovia*. 2021;4(1):3-24. [in Russian] (Багмет Л.В., Шлявас А.В. Номенклатурные стандарты сортов яблони селекции Павловской опытной станции ВИР. *Vavilovia*. 2021;4(1):3-24). DOI: 10.30901/2658-3860-2021-1-3-24

- Bagmet L.V., Tarasova G.N. Nomenclatural standards of pear varieties bred by Sverdlovsk Horticultural Breeding Station. *Agricultural Science Euro-North-East*. 2023;24(2):201-213. [in Russian] (Багмет Л.В., Тарасова Г.Н. Номенклатурные стандарты сортов груши селекции Свердловской селекционной станции садоводства. *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2023;24(2):201-213). DOI: 2072-9081.2023.24.2.201-213
- Bagmet L.V., Tikhonova N.G. Nomenclature standards of honeysuckle varieties selected by the Pavlovsk Experimental Station of the Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources. *Horticulture and viticulture*. 2023;(4):5-13. [in Russian] (Багмет Л.В., Тихонова Н.Г. Номенклатурные стандарты сортов жимолости селекции Павловской опытной станции Всероссийского научно-исследовательского института генетических ресурсов имени Н.И. Вавилова. *Садоводство и виноградарство*. 2023;(4):5-13). DOI: 0235-2591-2023-4-5-13
- Ballvora A., Ercolano M.R., Weiss J., Meksem K., Bormann C.A., Oberhagemann P., Salamini F., Gebhardt C. The *RI* gene for potato resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) belongs to the leucine zipper/NBS/LRR class of plant resistance genes. *The Plant Journal*. 2002;30(3):361-371. DOI: 10.1046/j.1365-313X.2001.01292.x
- Belozor N.I. Herbarization of cultivated plants: (guidelines) (Gerbarizatsiya kulturnykh rastenii: (metodicheskie ukazaniya)). Leningrad: VIR; 1989. [in Russian] (Белозор Н.И. Гербаризация культурных растений: (методические указания). Ленинград: ВИР; 1989).
- Bhardwaj V., Kumar A., Sharma S., Singh B., Poonam, Sood S., Dipta B., Singh S., Siddappa S., Thakur A.K., Dalamu D., Sharma A.K., Kumar V., Lal M., Kumar D. Analysis of genetic diversity, population structure and association mapping for late blight resistance in potato (*Solanum tuberosum* L.) accessions using SSR markers. *Agronomy*. 2023;13(2):294. DOI: 10.3390/agronomy13020294
- Brickell C.D., Alexander C., Cubey J.J., David J.C., Hoffman M.H.A., Leslie A.C., Malécot V., Jin X. (eds). International code of nomenclature for cultivated plants. Ed. 9. *Scripta Horticulturae*. 2016;18:1-XVII+1-190.
- Bryan G.J., McNicoll J., Ramsay G., Meyer R.C., De Jong W.S. Polymorphic simple sequences repeat markers in chloroplast genomes of Solanaceous plants. *Theoretical and Applied Genetics*. 1999;99(5):859-867. DOI: 10.1007/s001220051306
- Chayka A.K., Vashchenko E.P. Agrarian science in Primorye (XX-XXI centuries) (Agrarnaya nauka v Primorye (XX-XXI vv.). A.K. Novoselov (ed.). Vladivostok: Reya; 2017. [in Russian] (Чайка А.К., Ващенко Е.П. Аграрная наука в Приморье (XX-XXI вв.) / под ред. А.К. Новоселова. Владивосток: Рея; 2017).
- Colton L.M., Groza H.I., Wielgus S.M., Jiang J. Marker-assisted selection for the broad-spectrum potato late blight resistance conferred by gene *RB* derived from a wild potato species. *Crop Science*. 2006;46(2):589-594. DOI: 10.2135/cropsci2005.0112
- Dionne L.A. Cytoplasmic sterility in derivatives of *Solanum demissum*. *American Potato Journal*. 1961;38(4):117-120. DOI: 10.1007/BF02870217
- Dunaeva S.E., Pendinen G.I., Antonova O.Yu., Shvachko N.A., Ukhatova Yu.V., Shuvalova L.E., Volkova N.N., Gavrilenko T.A. Preservation of vegetatively propagated crops in *in vitro* and cryocollections: methodological guidelines (Sokhraneniye vegetativno razmnozhayemykh kultur v *in vitro*- i kriokollekttsiyakh: metodicheskiye ukazaniya). T.A. Gavrilenko (ed.). 2nd ed. St. Petersburg: VIR; 2017. [in Russian] (Дунаева С.Е., Пендинен Г.И., Антонова О.Ю., Швачко Н.А., Ухатова Ю.В., Шувалова Л.Е., Волкова Н.Н., Гавриленко Т.А. Сохранение вегетативно размножаемых культур в *in vitro*- и криоколлекциях: методические указания / под ред. Т.А. Гавриленко. 2-е изд. Санкт-Петербург: ВИР; 2017).
- Efremova O.S., Volkova N.N., Rybakov D.A., Lisitsyna O.V., Ozerski P.V., Gavrilenko T.A. Development of the potato cryocollection preserved in the VIR cryobank. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2023;184(3):9-20. [in Russian] (Ефремова О.С., Волкова Н.Н., Рыбаков Д.А., Лисицына О.В., Озерский П.В., Гавриленко Т.А. Расширение криоколлекции образцов картофеля, сохраняемой в криобанке ВИР. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2023;184(3):9-20). DOI: 10.30901/2227-8834-2023-3-9-20
- Ershova L.A., Varganova I.V., Lebedeva N.V. Nomenclatural standard of barley cultivar 'Talovsky 9'. *Vavilovia*. 2023;6(3):15-21. [in Russian] (Ершова Л.А., Варганова И.В., Лебедева Н.В. Номенклатурный стандарт сорта ячменя 'Таловский 9'. *Vavilovia*. 2023;6(3):15-21). DOI: 2658-3860-2023-3-01
- Evdokimenko S.N., Kamnev A.M., Podgaetskiy M.A., Burmenko Yu.V., Chukhina I.G. Nomenclature standards for raspberry breeding varieties of the Federal Scientific Breeding and Technological Center for Horticulture and Plant Nursery. *Horticulture and viticulture*. 2023;(4):14-24. [in Russian] (Евдокименко С.Н., Камнев А.М., Подгаецкий М.А., Бурменко Ю.В., Чухина И.Г. Номенклатурные стандарты сортов малины селекции Федерального научного селекционно-технологического центра садоводства и питомниководства. *Садоводство и виноградарство*. 2023;(4):14-24). DOI: 0235-2591-2023-4-14-24
- Feingold S., Lloyd J., Norero N., Bonierbale M., Lorenzen J. Mapping and characterization of new EST-derived microsatellites for potato (*Solanum tuberosum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2005;111(3):456-466. DOI: 10.1007/s00122-005-2028-2
- Finkers-Tomczak A., Bakker E., de Boer J., van der Vossen E., Achenbach U., Goals T., Suryaningrat S., Smant G., Bakker J., Govere A. Comparative sequence analysis of the potato cyst nematode resistance locus *HI* reveals a major lack of co-linearity between three haplotypes in potato (*Solanum tuberosum* ssp.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2011;122(3):595-608. DOI: 10.1007/s00122-010-1472-9
- Fisenko P., Sobko O., Kim I., Matsishina N., Volkov D. Screening of Potato Cultivars (*Solanum tuberosum* L.) and Identification of Markers of Resistance Genes to PVX, PVY, *Globodera pallida* and *Globodera rostochiensis*. In: Muratov, A., Ignateva, S. (eds) *Fundamental and Applied Scientific Research in the Development of Agriculture in the Far East. Agricultural Innovation Systems, Vol. 1. Lecture Notes in Networks and Systems. International Scientific Conference AFE-2021*. Ussuriysk: Springer, Cham. 2022;353:1-8. DOI: 10.1007/978-3-030-91402-8_1
- Fisenko P.V., Matsishina N.V., Popova Yu.S., Volkov D.I., Khoruzheva T.I., Ermak M.V., Sobko O.A. Study of the structure of potato varieties to *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, *Synchytrium endobioticum* (Schilb.), *Globodera pallida* (Stone), *Globodera rostochiensis* (Wollenweber), PVY, PVX in Primorsky Krai. *Agrarian science*. 2023;374(9):126-132 [in Russian] (Фисенко П.В., Мацшишина Н.В., Попова Ю.С., Волков Д.И., Хоружева Т.И., Ермак М.В., Собко О.А. Изучение устойчивости сортов картофеля к *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, *Synchytrium endobioticum* (Schilb.), *Globodera pallida* (Stone), *Globodera rostochiensis* (Wollenweber), PVY, PVX в Приморском крае. *Аграрная наука*. 2023; 374(9):126-132). DOI: 10.32634/0869-8155-2023-374-9-126-132
- Flis B., Hennig J., Strzelczyk-Zyta D., Gebhardt C., Marczewski W. The *Ry-f*^{so} gene from *Solanum stoloniferum* for extreme resistant to *Potato virus Y* maps to potato chromosome XII and is diagnosed by PCR marker GPI22₈ in PVY resistant potato cultivars. *Molecular Breeding*. 2005;15(1):95-101. DOI: 10.1007/s11032-004-2736-3
- Fomina N.A., Antonova O.Yu., Chukhina I.G., Gimaeva E.A., Stashevski Z., Gavrilenko T.A. Nomenclatural standards and genetic passports of potato cultivars bred by the Tatar Research Institute of Agriculture "Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences". *Plant Biotechnology and Breeding*. 2020a;3(3):55-67. [in Russian] (Фомина Н.А., Антонова О.Ю., Чухина И.Г., Гимаева Е.А., Сташевски З., Гавриленко Т.А. Номенклатурные стандарты и генетические паспорта сортов картофеля селекции Татарского НИИСХ «Казанский научный центр РАН». *Биотехнология и селекция растений*. 2020a;3(3):55-67). DOI: 10.30901/2658-6266-2020-3-04
- Fomina N.A., Antonova O.Yu., Chukhina I.G., Rybakov D.A., Safonova A.D., Meleshin A.A., Gavrilenko T.A. Nomenclatural standards, voucher specimens and genetic passports of potato cultivars created in the Siberian and Ural breeding centers. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2020b;3(4):53-76. [in Russian] (Фомина Н.А., Антонова О.Ю., Чухина И.Г., Рыбаков Д.А.,

- Сафонова А.Д., Мелешин А.А., Гавриленко Т.А. Номенклатурные стандарты, ваучерные образцы и генетические паспорта сортов картофеля, выведенных в селекционных центрах Сибири и Урала. *Биотехнология и селекция растений*. 2020b;3(4):53-76. DOI: 10.30901/2658-6266-2020-4-03
- Gavrilenko T.A., Chukhina I.G. Nomenclatural standards of modern Russian potato cultivars preserved at the VIR herbarium (WIR): A new approach to cultivar gene pool registration in a genebank. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2020;3(3):6-17. [in Russian] (Гавриленко Т.А., Чухина И.Г. Номенклатурные стандарты современных российских сортов картофеля, хранящиеся в гербарии ВИР (WIR): новые подходы к регистрации сортового генофонда в генбанках. *Биотехнология и селекция растений*. 2020;3(3):6-17. DOI: 10.30901/2658-6266-2020-3-02
- Gavrilenko T.A., Dunaeva S.E., Tikhonova O.A., Chukhina I.G. New approaches to registration and conservation of domestic cultivars of berry crops in the VIR Genebank on the example of red raspberry and black currant. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2022;5(4):24-38. [in Russian] (Гавриленко Т.А., Дунаева С.Е., Тихонова О.А., Чухина И.Г. Новые подходы к регистрации и сохранению отечественных сортов ягодных культур в генбанке ВИР на примере малины обыкновенной и смородины черной. *Биотехнология и селекция растений*. 2022;5(4):24-38. DOI: 10.30901/2658-6266-2022-4-05
- Gavrilenko T.A., Klimenko N.S., Alpatieva N.V., Kostina L.I., Lebedeva V.A., Evdokimova Z.Z., Apalikova O.V., Novikova L.Y., Antonova O.Yu. Cytoplasmic genetic diversity of potato varieties bred in Russia and FSU countries. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(6):753-764. DOI: 10.18699/VJ19.534
- Gavrilenko T.A., Klimenko N.S., Antonova O.Yu., Lebedeva V.A., Evdokimova Z.Z., Gadzhiev N.M., Apalikova O.V., Alpatieva N.V., Kostina L.I., Zoteyeva N.M., Mamadbokirova F.T., Egorova K.V. Molecular screening of potato varieties bred in the northwestern zone of the Russian Federation. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(1):35-45. [in Russian] (Гавриленко Т.А., Клименко Н.С., Антонова О.Ю., Лебедева В.А., Евдокимова З.З., Гаджиев Н.М., Апаликова О.В., Алпатьева Н.В., Костина Л.И., Зотеева Н.М., Мамадобкирова Ф.Т., Егорова К.В. Молекулярный скрининг сортов и гибридов картофеля Северо-Западной зоны Российской Федерации. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2018;22(1):35-45. DOI: 10.18699/VJ18.329
- Ghebreslassie B.M., Githiri S. M., Mehari T., Kasili R.W., Ghislain M., Magesse E. Genetic diversity assessment of farmers' and improved potato (*Solanum tuberosum*) cultivars from Eritrea using simple sequence repeat (SSR) markers. *African Journal of Biotechnology*. 2016;15(35):1883-1891. DOI: 10.5897/AJB 2016.15237
- Ghislain M., Nunez J., del Rosario Herrera M, Pignataro J., Guzman F., Bonierbale M., Spooner D.M. Robust and highly informative microsatellite-based genetic identity kit for potato. *Molecular Breeding*. 2009;23:377-388. DOI: 10.1007/s11032-008-9240-0
- Hosaka K. Distribution of the 241 bp deletion of chloroplast DNA in wild potato species. *American Journal of Potato Research*. 2002;79(2):119-123. DOI: 10.1007/BF02881520
- Hosaka K., Sanetomo R. Development of a rapid identification method for potato cytoplasm and its use for evaluating Japanese collections. *Theoretical and Applied Genetics*. 2012;125(6):1237-1251. DOI: 10.1007/s00122-012-1909-4
- Huang S., van der Vossen E.A.G., Kuang H., Vleeshouwers V.G.A.A., Zhang N., Borm T.J.A., van Eck H.J., Baker B., Jacobsen E., Visser R.G.F. Comparative genomics enabled the isolation of the *R3a* late blight resistance gene in potato. *The Plant Journal*. 2005;42(2):251-261. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2005.02365.x
- Irikura Y. Studies on interspecific crosses of tuber-bearing Solanums. I. Overcoming cross-incompatibility between *Solanum tuberosum* and other *Solanum* species by means of induced polyploids and haploids. *Research Bulletin. Hokkaido National Agricultural Experiment Station*. 1968;92:21-37.
- Ivanova-Pozdejeva A., Kivistik A., Kübarssepp L., Tähtjärv T., Tshakna A., Droz E., Laanemets K. Fingerprinting of potato genotypes from Estonian Genebank collection using SSR markers. *Potato Research*. 2022;65:153-170. DOI: 10.1007/s11540-021-09514-z
- Kamnev A.M., Yagovtseva N.D., Dunaeva S.E., Gavrilenko T.A., Chukhina I.G. Nomenclatural standards of raspberry cultivars bred in the Altai. *Vavilovia*. 2021;4(2):26-43. [in Russian] (Камнев А.М., Яговцева Н.Д., Дунаева С.Е., Гавриленко Т.А., Чухина И.Г. Номенклатурные стандарты сортов малины Алтайской селекции. *Vavilovia*. 2021;4(2):26-43. DOI: 10.30901/2658-3860-2021-2-26-43
- Kasai K., Morikawa Y., Sorri V.A., Valkonen J.P.T., Gebhardt C., Watanabe K.N. Development of SCAR markers to the PVY resistance gene *Ry^{adg}* based on a common feature of plant disease resistance genes. *Genome*. 2000;43(1):1-8. DOI: 10.1139/g99-092
- Kim I.V., Klykov A.G. Potential of potato as a bioresource in the Russian Far East. V.S. Serdyuk (ed.). Vladivostok: Dal-nauka; 2023. [in Russian] (Ким И.В., Клыков А.Г. Биоресурсный потенциал картофеля на Дальнем Востоке / под ред. В.С. Сердюка. Владивосток: Даль-наука; 2023).
- Klimenko N.S., Antonova O.Yu., Kostina L.I., Mamadbokirova F.T., Gavrilenko T.A. Marker-associated selection of Russian potato varieties with using markers of resistance genes to the golden potato cyst nematode (pathotype Ro1). *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2017;178(4):71-79. [in Russian] (Клименко Н.С., Антонова О.Ю., Костина Л.И., Мамадобкирова Ф.Т., Гавриленко Т.А. Маркер-опосредованная селекция отечественных сортов картофеля с маркерами генов устойчивости к золотистой картофельной нематоды (патотип Ro1)). *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2017;178(4):71-79. DOI: 10.30901/2227-8834-2017-4-66-75
- Klimenko N.S., Gavrilenko T.A., Chukhina I.G., Gadzhiev N.M., Evdokimova Z.Z., Lebedeva V.A. Nomenclatural standards and genetic passports of potato cultivars bred at the Leningrad Research Institute for Agriculture "Belogorka". *Plant Biotechnology and Breeding*. 2020;3(3):18-54. [in Russian] (Клименко Н.С., Гавриленко Т.А., Чухина И.Г., Гаджиев Н.М., Евдокимова З.З., Лебедева В.А. Номенклатурные стандарты и генетические паспорта сортов картофеля, выведенные селекционерами Ленинградского НИИСХ «Белогорка». *Биотехнология и селекция растений*. 2020;3(3):18-54. DOI: 10.30901/2658-6266-2020-3-03
- Klimenko N.S., Gavrilenko T.A., Kostina L.I., Mamadbokirova F.T., Antonova O.Yu. Search for resistance sources to *Globodera pallida* and potato virus X in the collection of potato varieties using molecular markers. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2019;2(1):42-48. [in Russian] (Клименко Н.С., Гавриленко Т.А., Костина Л.И., Мамадобкирова Ф.Т., Антонова О.Ю. Поиск источников устойчивости к *Globodera pallida* и к PVX в коллекции отечественных сортов картофеля с использованием молекулярных маркеров. *Биотехнология и селекция растений*. 2019;2(1):42-48. DOI: 10.30901/2658-6266-2019-1-42-48
- Lebedeva N.V., Fomina M.N., Ivanova Yu.S., Sharapova N.V., Varganova I.V. Nomenclatural standards of barley cultivars bred by the Scientific Research Institute of Agriculture for Northern Trans-Ural Region – Branch of the Tyumen Scientific Research Center SB RAS. *Vavilovia*. 2023;6(3):3-14. [in Russian] (Лебедева Н.В., Фомина М.Н., Иванова Ю.С., Шаранова Н.В., Варганова И.В. Номенклатурные стандарты сортов ячменя селекции НИИСХ Северного Зауралья – филиала Тюменского научного центра Сибирского отделения РАН. *Vavilovia*. 2023;6(3):3-14. DOI: 2658-3860-2023-3-02
- Lee K.-J., Sebastin R., Cho G.-T., Yoon M., Lee G.-A., Hyun D.-Y. Genetic diversity and population structure of potato germplasm in RDA-Genebank: utilization for breeding and conservation. *Plants*. 2021;10(4):752. DOI: 10.3390/plants10040752
- Lopez-Vizcón C., Ortega F. Detection of mislabelling in the fresh potato retail market employing microsatellite markers. *Food Control*. 2012;26(2):575-579. DOI: 10.1016/j.foodcont.2012.02.020
- Lössl A., Götz M., Braun A., Wenzel G. Molecular markers for cytoplasm in potato: male sterility and contribution of different plastid-mitochondrial configurations to starch production. *Euphytica*. 2000;116(3):221-230. DOI: 10.1023/A:1004039320227

- Milbourne D., Meyer R.C., Collins A.J., Ramsay L.D., Gebhardt C., Waugh R. Isolation, characterisation and mapping of simple sequence repeat loci in potato. *Molecular and General Genetics*. 1998;259:233-245. DOI: 10.1007/s004380050809
- Mori K., Sakamoto Y., Mukojima N., Tamiya S., Naka T., Ishii T., Hosaka K. Development of a multiplex PCR method for simultaneous detection of diagnostic DNA markers of five disease and pest resistance genes in potato. *Euphytica*. 2011;180(3):347-355. DOI: 10.1007/s10681-011-0381-6
- Oskina N.A., Rybakov D.A., Shanina E.P., Lisitsyna O.V., Chukhina I.G., Gavrilenko T.A. An integrated approach to the registration and preservation of a cultivar gene pool in the VIR genebank exemplified in cultivars bred by the Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2023;6(2):5-26. [in Russian] (Оськина Н.А., Рыбаков Д.А., Шанина Е.П., Лисицына О.В., Чухина И.Г., Гавриленко Т.А. Комплексный подход к регистрации и сохранению сортового генофонда в генбанке ВИР на примере сортов картофеля селекции Уральского федерального аграрного научно-исследовательского центра Уральского отделения РАН. *Биотехнология и селекция растений*. 2023;6(2):5-26). DOI: 10.30901/2658-6266-2023-2-04
- Patil V.U., Vanishree G., Saikia L., Bhardwaj V., Chakrabarti S.K. Genetic diversity of different late blight responsive Indian potato cultivars as revealed by SSR markers. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*. 2020;80(2):221-225. DOI: 10.31742/IJGPB.80.2.15
- Rahman S.U., Jamil S., Shahzad R., Yasmeen E., Sattar S., Iqbal M.Z. Genetic diversity and DNA fingerprinting of potato varieties using simple sequence repeat (SSR) markers. *Journal of Animal & Plant Sciences*. 2022;32(3):775-783. DOI: 10.36899/JAPS.2022.3.0479
- Reid A., Hof L., Felix G., Ruecker B., Tams S., Milczynska E., Esselink D., Uenk G., Vosman B., Weitz A. Construction of an integrated microsatellite and key morphological characteristic database of potato varieties on the EU Common Catalogue. *Euphytica*. 2011;182:239-249. DOI: 10.1007/s10681-011-0462-6
- Rybakov D.A., Cheremisin A.I., Antonova O.Yu., Chukhina I.G., Gavrilenko T.A. Nomenclatural standards and genetic passports of potato cultivars bred by the Omsk Agrarian Research Center. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2022;5(4):6-23. [in Russian] (Рыбаков Д.А., Черемисин А.И., Антонова О.Ю., Чухина И.Г., Гавриленко Т.А. Номенклатурные стандарты и генетические паспорта сортов картофеля селекции Омского Аграрного научного центра. *Биотехнология и селекция растений*. 2022;5(4):6-23). DOI: 10.30901/2658-6266-2022-4-04
- Rybakov D.A., Antonova O.Yu., Chukhina I.G., Fomina N.A., Klimenko N.S., Zheltova V.V., Meleshin A.A., Kochieva E.Z., Oves E.V., Apshev Kh.Kh., Simakov E.A., Gavrilenko T.A. Nomenclatural standards and genetic passports of potato cultivars bred in the A.G. Lorkh All-Russian Potato Research Institute of Potato Farming. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2020;3(4):5-52. [in Russian] (Рыбаков Д.А., Антонова О.Ю., Чухина И.Г., Фомина Н.А., Клименко Н.С., Желтова В.В., Мелешин А.А., Кочиева Е.З., Овэс Е.В., Апшев Х.Х., Симаков Е.А., Гавриленко Т.А. Номенклатурные стандарты и генетические паспорта сортов картофеля селекции Всероссийского научно-исследовательского института картофеля им. А.Г. Лорха. *Биотехнология и селекция растений*. 2020;3(4):5-52). DOI: 10.30901/2658-6266-2020-4-01
- Sanetomo R., Hosaka K.A. A maternally inherited DNA marker, descended from *Solanum demissum* (2n=6x=72) to *S. tuberosum* (2n=4x=48). *Breeding Science*. 2011;61(4):426-434. DOI: 10.1270/jsbbs.61.426
- Schultz L., Cogan N.O.I., McLean K., Dale M.F.B., Bryan G.J., Forster J.N.W., Slater A.T. Evaluation and implementation of a potential diagnostic molecular marker for *HI*-conferred potato cyst nematode resistance in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Breeding*. 2012;131(2):315-321. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2012.01949.x
- Sherstyukova T.P., Gamolina M.L. Creation of highly productive potato varieties in Kamchatka Krai. *Vestnik of Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences*. 2016;2:92-94. [in Russian] (Шерстюкова Т.П., Гамолина М.Л. Создание высокопродуктивных сортов картофеля в Камчатском крае. *Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук*. 2016;2:92-94).
- Sherstyukova T.P., Gamolina M.L. Sevryanin – new nematode-resistant variety of potato. *Far Eastern Agricultural Journal*. 2019;1(49):27-31. [in Russian] (Шерстюкова Т.П., Гамолина М.Л. Новый нематодоустойчивый сорт картофеля Северянин. *Дальневосточный аграрный вестник*. 2019;1(49):27-31). DOI: 10.24411/1999-6837-2019-11004
- Simakov Ye.A., Yakovleva V.A., Abrosimova S.B., D'yachenko A.A., Biryukova V.A. How to assess potato resistance to *Globodera rostochiensis*? The Russian scale should be brought in line with the European one (Kak otsenivat' ustoichivost' kartofelya k *Globodera rostochiensis*? Rossiyskiy shkalu pora privesti v sootvetstvie s evropeiskoy). *Plant protection and quarantine*. 2009;1:28-29. [in Russian] (Симаков Е.А., Яковлева В.А., Абросимова С.Б., Дьяченко А.А., Бирюкова В.А. Как оценивать устойчивость картофеля к *Globodera rostochiensis*? Российскую шкалу пора привести в соответствие с европейской. *Защита и карантин растений*. 2009;1:28-29).
- Smoley V.Ya. The results of vegetable crop breeding in Primorsky Krai (Itogi selektsii ovoshchnykh kul'tur v Primorskom krae). In: *Breeding and seed production of agricultural plants in the Far East: materials of the first scientific and methodological meeting on breeding and seed production of agricultural plants in the Far East (Selektsiya i semenovodstvo sel'skokhozyaystvennykh kul'tur na Dal'nem Vostoke: materialy pervogo nauchno-metodicheskogo soveshchaniya po selektsii i semenovodstvu sel'skokhozyaystvennykh rasteniy na Dal'nem Vostoke)*. Khabarovsk; 1970. p.181-187. [in Russian] (Смолей В.Я. Итоги селекции овощных культур в Приморском крае. В кн.: *Селекция и семеноводство сельскохозяйственных культур на Дальнем Востоке: материалы первого научно-методического совещания по селекции и семеноводству сельскохозяйственных растений на Дальнем Востоке*. Хабаровск; 1970. С.181-187).
- Song Y.-S., Schwarzfischer A. Development of STS markers for selection of extreme resistance (Ry_{stb}) to PVY and maternal pedigree analysis of extremely resistant cultivars. *American Journal of Potato Research*. 2008;85(2):159-170. DOI: 10.1007/s12230-008-9012-8
- State Register for Selection Achievements Admitted for Usage (National List). Vol. 1. "Plant varieties" (official publication). Moscow: Ministry of Agriculture of Russia; Gosortkommissiya; 2024. [in Russian] (Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1. «Сорта растений» (официальное издание). Москва: Министерство сельского хозяйства России; Госорткомиссия; 2024).
- Takeuchi T., Sasaki J., Suzuki T., Horita H., Hiura S., Iketani S., Fujita R., Senda K. DNA markers for efficient selection of disease and pests resistance genes in potato [in Japanese]. Hokkaido Nogyo-Shiken-Kaigi-Shiryo 2008. 2009;1:26.
- Tikhonova O.A., Shabliuk N.O., Gavrilenko T.A., Dunaeva S.E., Talovina G.V. Nomenclatural standards of black currant cultivars bred at VIR. *Vavilovia*. 2021;4(2):3-25. [in Russian] (Тихонова О.А., Шаблюк Н.О., Гавриленко Т.А., Дунаева С.Е., Таловина Г.В. Номенклатурные стандарты сортов чёрной смородины селекции ВИР. *Vavilovia*. 2021;4(2):3-25). DOI: 10.30901/2658-3860-2021-2-3-25
- Valkonen J., Wiegmann K., Hämäläinen J., Marczewski W., Watanabe K. Evidence for utility of the same PCR-based markers for selection of extreme resistance to *Potato virus Y* controlled by Ry_{stb} of *Solanum stoloniferum* derived from different sources. *Annals of Applied Biology*. 2008;152(1):121-130. DOI: 10.1111/j.1744-7348.2007.00194.x
- Varganova I.V., Stolpivskaya E.V., Kosykh L.A., Lebedeva N.V. Nomenclatural standards of spring barley cultivars bred by the Volga Scientific Research Institute of Selection and Seed-Growing named after P.N. Konstantinov. *Vavilovia*. 2023;6(4):3-14. [in Russian] (Варганова И.В., Столиповская Е.В., Косых Л.А., Лебедева Н.В. Номенклатурные стандарты сортов ярового ячменя селекции Поволжского научно-исследовательского института селекции и семеноводства

- имени П.Н. Константинова. *Vavilovia*. 2023;6(4):3-14. DOI: 2658-3860-2023-4-01
- Wang M., Allefs A., van den Berg R.G., Vleeshouwers V.G.A.A., van der Vossen E., Vosman B. Allele mining in *Solanum*: conserved homologues of *Rpi-blb1* are identified in *Solanum stoloniferum*. *Theoretical and Applied Genetics*. 2008;116(7):933-943. DOI: 10.1007/s00122-008-0725-3
- Zaytseva N.D. Guide to identifying potato varieties (Rukovodstvo po opredeleniyu sortov kartofelya). L.V. Zelenetskaya (ed.). Moscow: Rosselkhozizdat; 1965. [in Russian] (Зайцева Н.Д. Руководство по определению сортов картофеля / под ред. Л.В. Зеленецкой. Москва: Россельхозиздат; 1965).
- Zaytseva N.D. Description of potato varieties that participated in the state variety testing (Opisaniye sortov kartofelya, uchastvovavshikh v gosudarstvennom sortoispytanii). Moscow: Selkhozgiz; 1935. (Works of the Research Institute of Potato Farming (Raboty nauchno-issledovatel'skogo instituta kartofel'nogo khozyaystva); iss. 7). [in Russian] (Зайцева Н.Д. Описание сортов картофеля, участвовавших в государственном сортоиспытании. Москва: Сельхозгиз; 1935. (Работы Научно-исследовательского института картофельного хозяйства; вып. 7).
- Zaytseva N.D., Filippov A.S. Potato variety identification guide with seed production basics (Opredelitel' sortov kartofelya s osnovami semenovodstva). T.S. Mikael'yan (ed.). Moscow: MSKh RSFSR; 1962. [in Russian] (Зайцева Н.Д., Филиппов А.С. Определитель сортов картофеля с основами семеноводства / под ред. Т.С. Микаэльяна. Москва: МСХ РСФСР; 1962).

Информация об авторах

Даниил Александрович Рыбаков, научный сотрудник, лаборатория молекулярной селекции и ДНК-паспортизации, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, da-rybakov@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1520-0219>

Ирина Вячеславовна Ким, доктор сельскохозяйственных наук, главный научный сотрудник, лаборатория диагностики болезней картофеля, ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки, 692539 Россия, Уссурийск, поселок Тимирязевский, ул. Воложенина, 30, kimira-80@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0656-0645>

Анна Дмитриевна Иващенко, старший научный сотрудник, лаборатория биотехнологии полевых культур и селекции картофеля, Камчатский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – филиал ВИР, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 445137 Россия, село Сосновка, ул. Центральная, 4, ivashchenkoanna@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4714-4565>

Тамара Петровна Шерстюкова, старший научный сотрудник, лаборатория биотехнологии полевых культур и селекции картофеля, Камчатский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – филиал ВИР, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 445137 Россия, село Сосновка, ул. Центральная, 4.

Ольга Юрьевна Антонова, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующая, лаборатория молекулярной селекции и ДНК-паспортизации, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, olgaant326@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8334-8069>

Татьяна Андреевна Гавриленко, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, исполняющая обязанности заведующего, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, tatjana9972@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2605-6569>

Information about the authors

Daniil A. Rybakov, Researcher, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, da-rybakov@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1520-0219>

Irina V. Kim, Dr. Sci. (Agriculture), Chief Researcher, Laboratory of Potato Disease Diagnostics, Federal Scientific Center of Agricultural Biotechnology of the Far East named after A.K. Chaika, 30, Volozhenina Street, Timiryazevsky Village, Ussuriysk, 692539 Russia, kimira-80@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0656-0645>

Anna D. Ivashchenko, Senior Researcher, Laboratory of Biotechnology of Field Crops and Potato Breeding, Kamchatka Research Institute of Agriculture – branch of VIR, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 4, Tsentralnaya Street, Sosnovka Settlement, 445137 Russia, ivashchenkoanna@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4714-4565>

Tamara P. Sherstyukova, Senior Researcher, Laboratory of Biotechnology of Field Crops and Potato Breeding, Kamchatka Research Institute of Agriculture – branch of VIR, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 4, Tsentralnaya Street, Sosnovka Settlement, 445137 Russia.

Olga Yu. Antonova, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, olgaant326@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8334-8069>

Tatjana A. Gavrilenko, Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher, Acting Head, Biotechnology Department, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, tatjana9972@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2605-6569>

Вклад авторов:

Д.А.Р. – оформление номенклатурных стандартов, SSR-анализ, молекулярный скрининг, подготовка рукописи, анализ результатов. **И.В.К.** – ресурсное обеспечение: отбор и передача в ВИР растительного материала аутентичных образцов, данных о селекции сортов, предоставление копий официальных документов сортов и предсортов селекции ФГБНУ «ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки»; **А.Д.И.** и **Т.П.Ш.** – ресурсное обеспечение: отбор и передача в ВИР растительного материала аутентичных образцов, данных о селекции сортов, предоставление копий официальных документов сортов селекции Камчатского НИИСХ; **О.Ю.А.** – методологическое руководство молекулярно-генетическими исследованиями; **Т.А.Г.** – концептуализация, руководство исследованиями, анализ результатов, подготовка рукописи

Contribution of the authors:

D.A.R. – design of nomenclatural standards, SSR analysis, molecular screening, manuscript preparation, analysis of results; **I.V.K.** – resources provision: sampling and transfer of plant material of authentic accessions to VIR together with the cultivars breeding data, and copies of official documents for cultivars and precultivars bred at the Federal Scientific Center of Agricultural Biotechnology of the Far East named after A.K. Chaika; **A.D.I.** and **T.P.Sh.** – resources provision: sampling and transfer of plant material of authentic accessions to VIR together with the cultivars breeding data and copies of official documents for cultivars bred at the Kamchatka Research Institute of Agriculture; **O.Yu.A.** – methodological guidance of molecular genetic research; **T.A.G.** – conceptualization, research management, analysis of results, manuscript preparation.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Статья поступила в редакцию 01.11.2024; одобрена после рецензирования 26.11.2024; принята к публикации 27.12.2024.

The article was submitted on 01.11.2024; approved after reviewing on 26.11.2024; accepted for publication on 27.12.2024.

Научная статья

УДК 633.521:633.854:575.1

DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-08



Генотипирование линий генетической коллекции подсолнечника ВИР с использованием аллель-специфичных маркеров локуса *Rf1*

И. Н. Анисимова¹, Н. В. Алпатьева¹, М. К. Рязанова¹, Р. Д. Бердиган², Е. Е. Радченко¹, В. А. Гаврилова¹

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

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Ирина Николаевна Анисимова, irina_anisimova@inbox.ru

Актуальность. При создании промышленных гибридов подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) преимущественно используется генетическая система ЦМС-*Rf* на основе цитоплазматической мужской стерильности РЕТ1-типа. Ключевым геном в селекции гибридов является *Rf1*, необходимый для восстановления фертильности пыльцы растений F_1 . Эффективным инструментом для идентификации генотипов родительских линий по локусу *Rf1*, контроля однородности, а также определения генетической чистоты партий гибридных семян являются молекулярно-генетические маркеры, апробированные на различном генетическом материале. В настоящем исследовании для идентификации генотипов линий генетической коллекции подсолнечника ВИР и межлинейных гибридов F_2 использованы доступные из литературных источников аллель-специфичные маркеры генов-кандидатов локуса *Rf1*. **Материал и методы.** Изучены две выборки генотипов: 46 линий генетической коллекции подсолнечника ВИР, ранее охарактеризованных в полевых опытах по способности к восстановлению фертильности пыльцы, и 80 фенотипированных по признакам фертильности/стерильности растений, из расщепляющихся популяций F_2 от скрещиваний линии ЦМС ВИР 116А с восстановителями фертильности ВИР 740 и RIL 130. Линии различались по типу цитоплазмы и наличию SCAR-маркера HRG02, тесно сцепленного с локусом *Rf1*. Линии генотипированы с использованием маркеров, специфичных для доминантного (PPR621.5R, SRF833, 67N04_P_170) и рецессивного (PPR621.5M, 67N04_P_155) аллелей генов-кандидатов *Rf1*. Маркерные фрагменты PPR621.5M и PPR621.5 R, амплифицированные у шести генотипов, были выделены и секвенированы. **Результаты.** Нуклеотидные последовательности маркеров PPR621.5M и PPR621.5R отличались по четырём SNP и были полностью идентичными с опубликованными в литературе. У линий ЦМС и большинства закрепителей стерильности идентифицированы маркеры PPR621.5M и 67N04_P_155, специфичные для аллеля *rf1*. Девятнадцать из 21 линии, характеризовавшейся стерильной цитоплазмой и наличием маркера HRG02, имели по три маркера, специфичных для доминантного аллеля; у двух линий обнаружены по два аллель-специфичных маркера. У четырёх из семи восстановителей фертильности (стерильная цитоплазма, без маркера HRG02) выявлено по два или три маркера, специфичных для доминантного аллеля, у трёх линий идентифицированы лишь маркеры рецессивного аллеля. Обнаружены генотипы F_2 , возникшие в результате рекомбинации между SCAR-маркером HRG02 и аллель-специфичными маркерами. **Заключение.** Подтверждены эффективность аллель-специфичных маркеров генов-кандидатов локуса *Rf1* для генотипирования линий подсолнечника и их диагностическая ценность для отбора целевых генотипов из расщепляющихся гибридных популяций.

Ключевые слова: *Helianthus annuus*, система ЦМС-*Rf*, гибриды, восстановление фертильности пыльцы, генотип, SNP, гаплотип

Благодарности: работа выполнена в рамках Государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № FGEM –2022-0005 «Растительные ресурсы масличных и прядильных культур ВИР как основа теоретических исследований и их практического использования»

Для цитирования: Анисимова И.Н., Алпатьева Н.В., Рязанова М.К., Бердиган Р.Д., Радченко Е.Е., Гаврилова В.А. Генотипирование линий генетической коллекции подсолнечника ВИР с использованием аллель-специфичных маркеров локуса *Rf1*. *Биотехнология и селекция растений*. 2024;7(4):56-67. DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-08

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

© Анисимова И.Н., Алпатьева Н.В., Рязанова М.К., Бердиган Р.Д., Радченко Е.Е., Гаврилова В.А., 2024

Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-o8

Genotyping of lines from the VIR sunflower genetic collection using allele-specific markers of the Rf1 locus

Irina N. Anisimova¹, Natalia V. Alpatieva¹, Maria K. Ryazanova¹, Roman D. Berdigan², Evgeny E. Radchenko¹, Vera A. Gavrilova¹

¹N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia

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

Corresponding author: Irina N. Anisimova, irina_anisimova@inbox.ru

Background. The CMS-*Rf* genetic system based on the PET1-type cytoplasmic male sterility (CMS) is commonly used to create commercial sunflower (*Helianthus annuus*) hybrids. The *Rf1* gene, of key importance for hybrid breeding, is necessary for restoring pollen fertility in F₁ plants. The molecular genetic markers tested on various genetic materials are an effective tool for identifying parental line genotypes at the Rf1 locus, controlling homogeneity, and determining the genetic purity of hybrid seed lots. In the present study, the allele-specific markers of the *Rf1* candidate genes available from literature were used to genotype lines from the VIR sunflower genetic collection and F₂ hybrids. **Material and methods.** The study concentrated on two sample sets of genotypes, one of which contained 46 lines from the VIR sunflower genetic collection, previously characterized in field experiments for the pollen restoration ability, and the other 80 plants from segregating F₂ populations from crosses of the CMS VIR 116A line with fertility restorers VIR 740 and RIL 130, phenotyped for fertility/sterility. The lines differed in respect of the cytoplasm type and the presence of the SCAR marker HRG02 closely linked to the Rf1 locus. The lines have been genotyped using markers specific for the dominant (PPR621.5R, SRF833, 67N04_P_170) and recessive (PPR621.5M, 67N04_P_155) alleles of the *Rf1* candidate genes. The PPR621.5M and PPR621.5R marker fragments amplified in six genotypes, have been isolated and sequenced. **Results.** The nucleotide sequences of PPR621.5M and PPR621.5R turned out to be different in four SNPs and completely identical to those presented in the published literature. The PPR621.5M and 67N04_P_155 markers specific for the *rf1* allele were identified in CMS lines and the majority of sterility maintainers. Nineteen out of 21 lines characterized by sterile cytoplasm and the presence of the HRG02 marker had three markers specific for the dominant allele; two lines had two allele-specific markers. Four out of seven fertility restorers (sterile cytoplasm, without the HRG02 marker) were found to contain two or three markers specific for the dominant allele, while three lines had only markers for the recessive allele. The F₂ genotypes resulting from recombination between the SCAR marker HRG02 and allele specific markers were detected. **Conclusion.** The study confirmed efficiency of allele-specific markers of the Rf1 locus candidate genes for genotyping sunflower lines, as well as their diagnostic value for selecting target genotypes from segregating hybrid populations.

Keywords: *Helianthus annuus*, CMS-*Rf* system, hybrids, pollen fertility restoration, genotype, SNP, haplotype

Acknowledgements: The research was performed within the framework of the State Assignment according to the Theme Plan of VIR, Project No. FGEM-2022-0005 “Plant resources of oil and fiber crops at VIR as the basis for theoretical research and their practical utilization”.

For citation: Anisimova I.N., Alpatieva N.V., Ryazanova M.K., Berdigan R.D., Radchenko E.E., Gavrilova V.A. Genotyping of lines from the VIR sunflower genetic collection using allele-specific markers of the Rf1 locus. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2024;7(4):56-67. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-o8

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.

© Anisimova I.N., Alpatieva N.V., Ryazanova M.K., Berdigan R.D., Radchenko E.E., Gavrilova V.A., 2024

Введение

Подсолнечник однолетний *Helianthus annuus* L. – ценная масличная культура, занимающая четвертое место в мире среди масличных растений и основная в Российской Федерации. Производство семян подсолнечника базируется на возделывании высокопродуктивных, устойчивых к болезням и вредителям гетерозисных гибридов. В качестве материнских форм при получении гибридов преимущественно используются стерильные линии (А) на основе цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС) РЕТ1-типа, источник которой впервые был обнаружен французским исследователем П. Леклерком в потомстве от межвидового скрещивания подсолнечника черешкового *H. petiolaris* Nutt. с культурным подсолнечником *H. annuus* (сорт Армавирский 9345 селекции ВНИИМК) (Leclercq, 1969). Для получения семян материнской линии ЦМС проводят скрещивания с линией В, закрепителем стерильности. Ядерные гены В-линии идентичны генам стерильной линии А, тогда как оргanelльные геномы различны: митохондриальная ДНК растений с ЦМС РЕТ1 содержит открытую рамку считывания *orfH522*, продукт которой – белок с молекулярной массой 16 кДа – оказывает токсическое действие на материнские клетки пыльцы, что приводит к стерильности (Horn et al., 1991). Отцовскими компонентами скрещиваний при получении гибридов служат линии R – восстановители фертильности пыльцы. В большинстве случаев используемые при создании гибридов восстановители фертильности пыльцы несут доминантный аллель гена *Rf1*.

Первоначально ген восстановления фертильности был интродуцирован в генотипы линий *H. annuus* от дикорастущего техасского подсолнечника *H. annuus* subsp. *texanus* по классификации Heiser (Heiser, 1951). Созданная с их участием линия Т66006-2-1-В послужила донором доминантных аллелей *Rf1* в последующей селекции подсолнечника (Kinman, 1970; Baute et al., 2015). Ген *Rf1* является основной генетической детерминантой, контролирующей признак восстановления фертильности пыльцы в гибридной селекции подсолнечника на основе ЦМС РЕТ1-типа. Еще один ген, *Rf2*, необходимый для полного восстановления фертильности при ЦМС РЕТ1, был обнаружен в результате скрещивания Т66006-2-1-В с местным сортом ‘МЗО1398’. Этот ген присутствует в большинстве линий закрепителей стерильности и восстановителей фертильности (Anashchenko, Duka, 1985; Serieys, 2005).

Известно большое число и других источников ЦМС подсолнечника, полученных на основе межвидовых скрещиваний (Choudhari, Bagade, 2019), однако их использование в селекции ограничено из-за отсутствия надежных источников генов восстановления фертильности и негативного влияния стерильной цитоплазмы на проявление хозяйственно ценных признаков гибридов. В литературе сообщалось об 11 генах, ассоциированных с признаком восстановления фертильности пыльцы в различ-

ных генетических системах ЦМС-*Rf* у подсолнечника (Horn et al., 2003; Yue et al., 2010; Feng, Jan, 2008; Zhang et al., 2023, Trubacheeva et al., 2024). Ген *Rf3*, также восстанавливающий фертильность при ЦМС РЕТ1, обнаружен в генотипах линии RHA 340, производной скрещивания HA89*3/*H. argophyllus* 415) (Jan, Vick, 2007) и линии кондитерского подсолнечника RHA 280, полученной из сорта ‘Sundak Sel’ (Abratti et al., 2008; Liu et al., 2012). Ген *Rf4* необходим для восстановления фертильности пыльцы при ЦМС GIG2-типа (Feng, Jan, 2008), *Rf-PEF1* – при ЦМС PEF1 (Schnabel et al., 2008).

Ген *Rf1* картирован в группе сцепления 13 (LG13) молекулярно-генетической карты подсолнечника (Jan et al., 1998). В LG13 также локализованы гены *Rf5*, *Rf7* (Qi et al., 2012; Talukder et al., 2019) и *Rf-PET2* (Sajer et al., 2020). В LG3 картированы гены *Rf4*, *Rf6* и *Rf9* (Feng, Jan, 2008; Liu et al., 2013; 2023), в LG7 – ген *Rf3* (Abratti et al., 2008; Liu et al., 2012).

Поиск новых доноров генов восстановления фертильности пыльцы (*Rf*) для создания отцовских линий гибридов является весьма трудоёмким процессом. Он требует проведения тест-скрещиваний и фенотипирования растений F₁ по признакам мужской фертильности/стерильности. Решению этой задачи могут способствовать молекулярные маркеры. Исследования в области маркер-опосредованной селекции подсолнечника сосредоточены на разработке молекулярных маркеров, тесно сцепленных с локусом *Rf1* (Radanovi'c, 2022; Trubacheeva et al., 2024). До недавнего времени для маркирования генотипов подсолнечника по локусу *Rf1* преимущественно использовались сцепленные с ним SCAR-маркеры HRG01 и HRG02, картированные на расстояниях 0,8 сМ и 2,0 сМ, соответственно. Маркеры показали высокую диагностическую ценность, но из-за возможных рекомбинационных событий, а также доминантного характера наследования они не обладают 100%-ной эффективностью при отборе целевых генотипов в расщепляющихся популяциях (Horn et al, 2003; Anisimova et al., 2021).

Трудности разработки аллель-специфичных маркеров обусловлены сложной организацией локуса *Rf1*. По данным независимых исследований, потенциальные гены-кандидаты в локусе *Rf1* локализованы в двух обширных районах группы сцепления 13 с размерами 30 мегаоснований (с координатами 28,051,124-58,081,625) и 3,9 мегаоснований (с координатами 169,655,088-173,581,392), между которыми находится протяжённая неидентифицированная область длиной 114 мегаоснований (Goryunov et al., 2019; Horn et al., 2019; Polivanova et al., 2021; Sivolapova et al., 2023). Методом GWAS (англ. Genome-Wide Association Studies, GWA study) в последовательностях генов-кандидатов идентифицированы и валидированы на репрезентативной выборке генотипов серии функционально значимых SNP (англ. Single Nucleotide Polymorphism). На их основе разработаны три аллель-специфичных маркера гена *Rf1*: кодоминантный 67N04_P (фланкирующий область в 30 мегаоснований)

и два доминантных, PPR621.5R (для идентификации восстановителей фертильности) и PPR621.5M (для идентификации закрепителей стерильности), которые находятся на противоположном конце, в области 3,9 мегаоснований (Horn et al., 2019). Недавно опубликован ряд новых аллель-специфичных маркеров, которые были апробированы при анализе образцов коллекции ВНИИМК и пула родительских линий, используемых при создании гибридов в семеноводческой компании «Агроплазма» (Polivanova et al., 2021; Sivolapova et al., 2023). Наиболее эффективным среди них оказался тесно сцепленный с локусом Rfl маркер SRF833, эффективность которого подтверждена при анализе расщепляющейся гибридной популяции (Sivolapova et al., 2023). Маркеры HRG02 и PPR621.5 находятся по обе стороны от локуса Rfl на расстоянии 0,3 сМ и 0,4 сМ соответственно (Sivolapova et al., 2023).

Цель настоящего исследования – характеристика генов-кандидатов локуса Rfl генотипов линий подсолнечника генетической коллекции ВИР с помощью аллель-специфичных маркеров.

Материалы и методы

Материал включал две выборки генотипов подсолнечника. В **первую** вошли 46 линий генетической коллекции подсолнечника ВИР, различавшихся по способности к восстановлению фертильности пыльцы форм с ЦМС РЕТ1 (табл. 1). Линии были репродуцированы на Кубанской опытной станции – филиале ВИР – в 2016 году. Способность линий к восстановлению фертильности пыльцы или закреплению стерильности установлена методом тест-скрещиваний с линиями ЦМС в результате мно-

голетних исследований (Gavrilova et al., 2017). Предварительный молекулярный скрининг выборки выполнен с помощью диагностических маркеров, ассоциированных с генетической системой ЦМС-*Rf*: митохондриального маркера orfH522 и SCAR-маркера HRG02, сцепленного с доминантным аллелем ядерного гена *Rfl* (см. табл. 1). **Вторая** выборка включала 80 генотипов из расщепляющихся популяций F₂ от скрещиваний линии ЦМС ВИР 116А с линиями-восстановителями фертильности ВИР 740 и RIL 130. Гибриды F₂ были выращены на полях Научно-производственной базы (НПБ) «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» в 2015 году и каждое растение охарактеризовано по признаку «фертильность/стерильность». Для молекулярного анализа в каждой из популяций F₂ отобраны по две группы растений: фертильные и стерильные (20 растений в каждой).

Выделение ДНК и ПЦР-анализ. Фракции суммарной ДНК были выделены из зеленых листьев взрослых растений с использованием модифицированного СТАВ-метода (Li et al., 2007). Для генотипирования линий использовали аллель-специфичные маркеры, доминантного (PPR621.5R, SRF833, 67N04_P_170) и рецессивного (PPR621.5M, 67N04_P_155) аллелей гена *Rfl* (см. табл. 1).

ПЦР проводили по протоколам, рекомендованным разработчиками маркеров. Продукты амплификации разделяли электрофорезом в 1,5%, 2% или 3% агарозных гелях (в зависимости от размера ампликона) в 1× буфере ТВЕ. Гели окрашивали бромистым этидием и анализировали в ультрафиолетовом свете с использованием гель-документирующей системы «GelDoc Go» («Bio-Rad», США).

Таблица 1. Характеристика праймеров, использованных в работе

Table 1. Characteristics of primers used in this study

Праймер/ Primer	Последовательность/ Sequence	Размер продукта, пн/ Product size, bp	Источник/ Reference
HRG02-F	AAACGTGGGAGAGAGGTGG	740	Horn et al., 2003
HRG02-R	AAACGTGGGCTGAAGAАСТА		
PPR621.5-F1	AGTAATCTCCACATGAACATTTG	164	Horn et al., 2019
PPR621.5-F2	CAATAATCTCCACATGAACATTC		
PPR621.5-Rev	CCGGATTGTGTTCCGATTAG		
67N04-F1a	TGCAAGATAGGCGACTGAGGGCTCATCTCCAATTA	170, 155	Horn et al., 2019
67N04-F1b	TGAGGGCTCATCTCCAGCTG		
67N04-R	GGCTGCCATTAGTGAAGGAG		
SRF833-F	CTCAAGATAACATCAAACACGG	248	Sivolapova et al., 2023
SRF833-R	GAAAGAACATGTCATCACCA		
orfH522-F	TGCCTCAACTGGATAAATTCAC	516	Schnabel et al., 2008
orfH522-R	ACCGTTCTCTCACGAGTTGAAG		

Фрагменты, амплифицированные с помощью комбинаций праймеров PPR621.5-F1/PPR621.5-Rev и PPR621.5-F2/PPR621.5-Rev, были выделены из ПЦР-смеси и секвенированы на приборе ABI 3500xL (Applied Biosystems, USA) в ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии. В работе использовали реактивы от фирм «Хеликон», «Евроген», «Диалат», «Синтол» (Россия).

Результаты

Анализ ассоциаций между наличием аллель-специфичных маркеров, типом цитоплазмы и способностью к восстановлению фертильности пыльцы. Информативность маркеров PPR621.5R, PPR621.5M, 67N04_P и SRF833 для определения генотипов линий генетической коллекции подсолнечника ВИР по локусу Rfl оценивали на основании ассоциации между наличием диагностических фрагментов и способностью линии восстанавливать фертильность пыльцы или закреплять стерильность.

Маркеры PPR621.5R и PPR621.5M разработаны для идентификации двух разных гаплотипов одного из генов-кандидатов в локусе Rfl (Horn et al., 2019). Они позволяют выявлять значимые SNP G/C в позиции 173473513 геномной последовательности, ассоциированной с доминантным (*Rfl*) или рецессивным (*rfl*) аллелями гена. Комбинация праймеров PPR621.5F2/PPR621.5-Rev выявляет гаплотип с нуклеотидным основанием С (цитозин) в указанной позиции. Маркерный фрагмент PPR621.5R амплифицируется у линий-восстановителей фертильности (носителей доминантного аллеля *Rfl*). Комбинация праймеров PPR621.5-F1/PPR621.5-Rev выявляет гаплотип с нуклеотидным основанием G (гуанин). Маркерный фрагмент PPR621.5M амплифицируется с комбинацией праймеров PPR621.5-F1/PPR621.5-Rev носителей рецессивного аллеля *rfl* – стерильных линий и закрепителей стерильности. Оба маркерных фрагмента имеют размер 164 пн (рис. 1).

Для верификации гаплотипов, детектируемых с помощью маркеров PPR621.5M и PPR621.5R, секвенировали фрагменты, амплифицированные у шести генотипов:

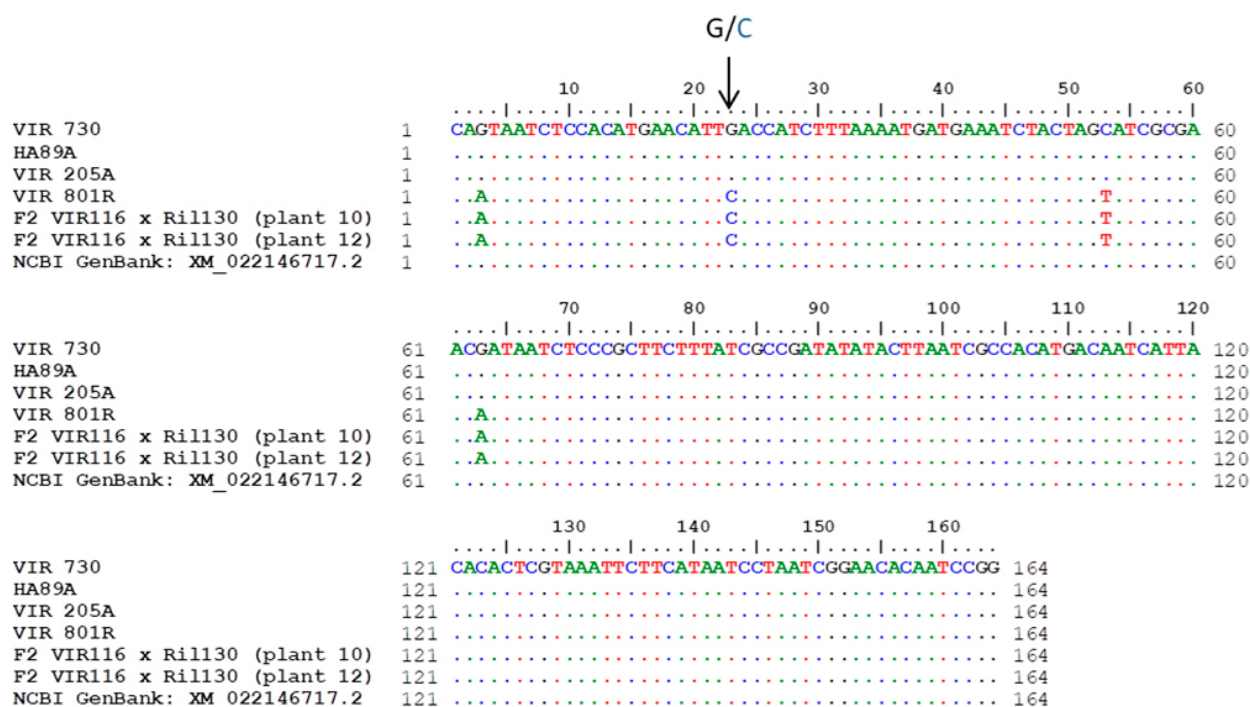


Рис. 1. Выравнивание последовательностей маркера PPR621.5M, амплифицированного у закрепителя стерильности ВИР 730, стерильных линий НА 89А, ВИР 205А, и маркера PPR621.5R, амплифицированного у восстановителя фертильности ВИР 801R и фертильных растений из популяции F₂ от скрещивания ВИР 116А × RIL 130. Позиция SNP G/C указана стрелкой. XM_022146717.2 – фрагмент референсной последовательности

Fig. 1. Alignment of the sequences of the PPR621.5M marker amplified from the maintainer line VIR 730, sterile lines HA 89A and VIR 205A, of the PPR621.5R marker amplified from the restorer line VIR 801R, and fertile plants from the F₂ hybrid population (VIR 116A × RIL 130). Arrow points to the SNP G/C position. XM_022146717.2 is the reference sequence fragment (NCBI, 2024)

с комбинацией праймеров PPR621.5-F1/PPR621.5-Rev – у стерильных линий ВИР 205А, НА 89А (ЦМС РЕТ1) и фертильной линии ВИР730 закрепителя стерильности; с комбинацией праймеров PPR621.5-F1/PPR621.5-Rev – у восстановителя фертильности пыльцы ВИР801 и двух фертильных растений (продуцировавших пыльцу) из расщепляющейся популяции F₂ (ВИР116А × ВИР740). Как и ожидалось, нуклеотидные последовательности изученных фрагментов оказались полностью идентичны опубликованным (Horn et al., 2019). В позиции 23 последовательности маркера PPR621.5M, амплифицированного у носителей рецессивного аллеля *rf1*, идентифицировано нуклеотидное основание G (гуанин), а в последовательности маркера PPR621.5R предполагаемых носителей доминантного аллеля ВИР 801 и двух рекомбинантных генотипов F₂ ВИР 116А × ВИР 740 в той же позиции присутствовало нуклеотидное основание С (цитозин). Последовательности также отличались другими аллель-специфичными SNP: G/A – в позиции 3, С/Т – в позиции 54 и G/A – в позиции 63, что подтверждает их идентич-

ность опубликованным ранее генотипам (Horn et al., 2019) (см. рис. 1).

В зависимости от типа цитоплазмы и наличия SCAR-маркера HRG02 (Horn et al., 2003), а также способности к восстановлению фертильности в полевых условиях, линии объединены в несколько групп: 1) стерильные линии ЦМС РЕТ1, без маркера HRG02, 2) закрепители стерильности с нормальной (фертильной) цитоплазмой, без маркера HRG02; 3) линии с нормальной цитоплазмой и маркером HRG02, среди которых ВИР 369, ВИР 740 и ВИР 743 восстанавливали фертильность пыльцы, в то время как ВИР 387 закрепляла стерильность гибридов F₁ от скрещиваний с линиями с ЦМС; 4) восстановители фертильности с цитоплазмой стерильного типа, без маркера HRG02; 5) восстановители фертильности и предполагаемые восстановители фертильности, не тестированные на восстановительную способность, с цитоплазмой стерильного типа и маркером HRG02 (табл. 2).

Таблица 2. Линии подсолнечника в зависимости от типа цитоплазмы и способности восстанавливать фертильность пыльцы при скрещиваниях с линиями ЦМС РЕТ1, либо закреплять стерильность

Table 2. Sunflower lines according to the cytoplasm type and the ability to restore pollen fertility or maintain sterility in crosses with CMS PET1 lines

Линия/ Line	Номер по каталогу ВИР/ VIR catalogue number	Происхождение/ Origin
1) Стерильные линии, цитоплазма РЕТ1-типа, без HRG02		
НА89А	2397	США
ВИР 116А	3454	к-2182, Вымпел, РФ
ВИР 205А	3464	РФ
ВИР 434А	3514	НА 378А, США
2) Цитоплазма фертильного типа, без HRG02		
ВИР 171 М	2792	К-2026, Канада
ВИР 340 М	3476	к-1933, Венгрия
ВИР 449 М	3527	Румыния, возможно, гибрид <i>Rf</i> 1201
ВИР 648 М	3420	к-2961, Аргентина
ВИР 665 М	3492	к-2961, Аргентина
ВИР 692 М	3522	РФ
ВИР 730 М	3502	РФ
ВИР 786 М	3775	РФ
ВИР 826 М	3649	к-1034, Италия
СЛ-2290 М	3606	Украина
3) Цитоплазма фертильного типа, с HRG02		
ВИР 369 R	3328	ВИР 113 × источник <i>Rf</i> , РФ
ВИР 387 М	3338	питомник ЦМС 83, РФ

Линия/ Line	Номер по каталогу ВИР/ VIR catalogue number	Происхождение/ Origin
5) Цитоплазма стерильного типа, с HRG02		
ВИР 263 R	3324	ВИР 113 × источник <i>Rf</i> , РФ
ВИР 386 R	3337	питомник ЦМС 83, РФ
ВИР 583 R	3383	и-545789, РНА 340, США
ВИР 584 R	3384	и-548680, СМ 611, Канада
ВИР 758 R	3554	ВИР 129 × <i>H. floridanus</i> , РФ
ВИР 768 R	3568	ВИР 232 × <i>H. maximiliani</i> , РФ
ВИР 769 R	3556	НА 232 × <i>H. trachelifolius</i> , РФ
ВИР 772 R	3559	и-588386, SAM 462, Финляндия
ВИР 789 R	3702	РФ
ВИР 794 R	3797	РФ
ВИР 795 R?	3760	РФ
ВИР 815 R	3686	РФ
ВИР 817 R	3630	МДА 3617, Финляндия
ВИР 819 R?	3761	ВИР 114 × к-1039, РФ
ВИР 830 R?	3789	и-598386, Финляндия
ВИР 832 R?	3646	и-576407, США
ВИР 833 R	3647	и-576407, США
ВИР 839 R?	3675	РФ

Линия/ Line	Номер по каталогу ВИР/ VIR catalogue number	Происхождение/ Origin
ВИР 740 R	3528	ВИР 113 × источник <i>Rf</i> , РФ
ВИР 743 R	3530	гибрид SW540 × R5E, Франция
4) Цитоплазма стерильного типа, без HRG02		
ВИР 196 R	3286	SL 3376, Болгария
ВИР 365 R	3326	Прогресс × к-2699, РФ
ВИР 370 R	3329	ВИР 113 × источник <i>Rf</i> , РФ
ВИР 631 R	3440	гибрид Sunbred 265, Франция
ВИР 646 R	3491	Ромсун-41, Румыния
ВИР 801 R	3571	Sunbred 265, Франция
ВИР 902 R	3650	к-3411, Финляндия

Линия/ Line	Номер по каталогу ВИР/ VIR catalogue number	Происхождение/ Origin
ВИР 840 R?	3676	РФ
ВИР 846 R	3683	к-3619, США
RIL 130 R	3599	Франция, I 1083 HR 4 × RHA 345

М – закрепитель стерильности, R – восстановитель фертильности, R? – предполагаемый восстановитель фертильности (нет результатов тест-скрещиваний)

M – sterility maintainer, R – fertility restorer, R? – supposed pollen fertility restorer (not tested)

Ранее показано, что большинство отцовских линий, используемых при создании гибридов подсолнечника, характеризуется стерильным типом цитоплазмы и имеет маркер HRG02 (Horn et al., 2019; Sivolarova et al., 2023). В этой связи особый интерес для нашего исследования представляли линии-восстановители фертильности пыльцы со стерильной цитоплазмой, но не имевшие маркера HRG02. Ассоциация маркера PPR621.5R с доминантным аллелем *Rf1* выявлена в группе 5 (см. табл. 2),

включавшей 21 линию со стерильным типом цитоплазмы и SCAR-маркером HRG02. В то же время у пяти из семи восстановителей фертильности, обладавших стерильным типом цитоплазмы и не имевших маркера HRG02 (группа 4, см. табл. 2), обнаружен маркер PPR621.5M, характерный для закрепителей стерильности. Маркер PPR621.5R, характерный для восстановителей фертильности (генотип *Rf1Rf1*), идентифицирован в этой группе лишь у линий ВИР 631 и ВИР 801 (рис. 2, табл. 3).

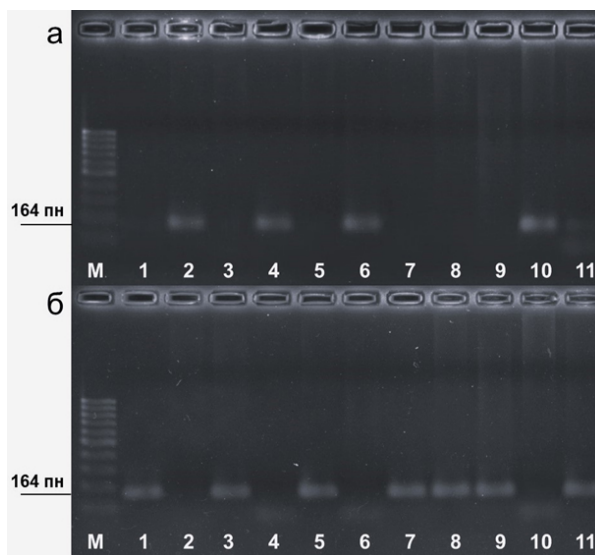


Рис. 2. Электрофореграммы продуктов амплификации маркеров PPR621.5M (а) и PPR621.5R (б): 1 – ВИР 789, 2 – ВИР 902, 3 – ВИР 263, 4 – ВИР 583, 5 – ВИР 584, 6 – ВИР 319, 7 – ВИР 772, 8 – ВИР 369, 9 – ВИР 743, 10 – ВИР 387, 11 – ВИР 740

Fig. 2. Electrophoregrams of amplification products of markers PPR621.5M (a) and PPR621.5R (b): 1 – VIR 789, 2 – VIR 902, 3 – VIR 263, 4 – VIR 583, 5 – VIR 584, 6 – VIR 319, 7 – VIR 772, 8 – VIR 369, 9 – VIR 743, 10 – VIR 387, 11 – VIR 740

Аллель-специфичный SCAR-маркер SFR833 тесно сцеплен с доминантным аллелем гена *Rfl*. При анализе расщепляющейся гибридной популяции рекомбинанты между SFR833 и *Rfl* не обнаружены (Sivolapova et al., 2023). В выборке линий генетической коллекции подсолнечника ВИР подтверждена связь между маркером SFR833 и доминантным аллелем *Rfl*. Маркер отсутствовал у стерильных линий (группа 1, см. табл. 2) и закрепителей стерильности (группа 2, см. табл. 2). Диагностический фрагмент 248 пн, амплифицированный с комбинацией праймеров SRF833-F/ SRF833-R, отмечен у всех линий группы 5 (восстановителей фертильно-

сти на основе стерильной цитоплазмы, см. табл. 2) кроме ВИР 583. Известно, что линия RHA 340, на основе которой была создана ВИР 583, предположительно обладает геном *Rf3* (Jan, Vick, 2007). Все характеризовавшиеся наличием маркера SRF833 линии группы 5 (см. табл. 2), включая ВИР 583, имели и маркер PPR621.5R, характерный для обладателей доминантного аллеля (рис. 3). В то же время маркер SFR833 обнаружен лишь у трёх из семи линий четвёртой группы (см. табл. 2), обладающих стерильным типом цитоплазмы и не имеющих маркера HRG02.

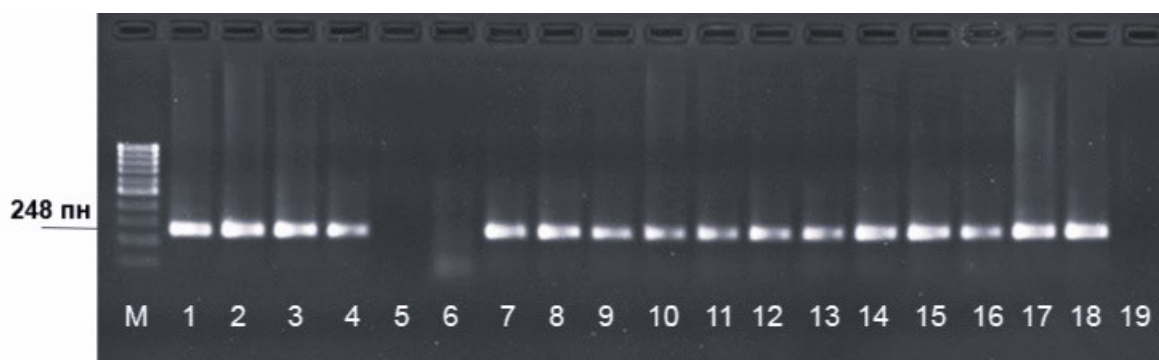


Рис. 3. Электрофореграммы продуктов амплификации маркера SRF833: 1 – ВИР 365, 2 – ВИР 343, 3 – ВИР 370, 4 – ВИР 801, 5 – ВИР 205А, 6 – ВИР 434А, 7 – ВИР 795, 8 – ВИР 768, 9 – ВИР 817, 10 – ВИР 819, 11 – ВИР 830, 12 – ВИР 832, 13 – ВИР 833, 14 – ВИР 839, 15 – ВИР 840, 16 – ВИР 826, 17 – RIL 130, 18 – ВИР 386, 19 – ВИР 730

Fig. 3. Electrophoregrams of amplification products of the marker SRF833: 1 – VIR 365, 2 – VIR 343, 3 – VIR 370, 4 – VIR 801, 5 – VIR 205A, 6 – VIR 434A, 7 – VIR 795, 8 – VIR 768, 9 – VIR 817, 10 – VIR 819, 11 – VIR 830, 12 – VIR 832, 13 – VIR 833, 14 – VIR 839, 15 – VIR 840, 16 – VIR 826, 17 – RIL 130, 18 – VIR 386, 19 – VIR 730

Четвертый из использованных в работе маркеров – кодоминантный PAMSA (Polymerase chain reaction Amplification of Multiple Specific Alleles) 67N04_P – также разработан для детекции SNP в последовательности предполагаемого гена-кандидата *Rfl*. Этот аллель-специфичный маркер амплифицируется с помощью системы из трех праймеров: двух прямых и одного обратного. Один из прямых праймеров содержит на 3'-конце дополнительную последовательность длиной 15 нуклеотидов, что позволяет амплифицировать продукты, специфичные для доминантного (фрагмент длиной 170 пн) и рецессивного (фрагмент длиной 155 пн) аллелей гена *Rfl* (Horn et al., 2019). Ассоциация вариантов маркера 67N04_P со способностью линии восстанавливать фертильность пыльцы или закреплять стерильность подтверждена при анализе линий ЦМС и закрепителей стерильности (группы 1 и 2, см. табл. 2, размер диагностического фрагмента 155 пн), а также восстановителей фертильности пыльцы и предполагаемых восстановителей, обладавших стерильной цитоплазмой и SCAR-маркером HRG02 (группа 5, см. табл. 2, размер диагностического фрагмента 67N04_P 170 пн). В группе 5 (см. табл. 2) фрагмент размером 155 пн обнаружен лишь у линии ВИР 794.

Генотипирование гибридных растений F_2 с помощью аллель-специфичных маркеров локуса *Rfl*. Для подтверждения диагностической ценности аллель-специфичных маркеров гена *Rfl*, из популяций гибридов F_2 от скрещивания линии ЦМС ВИР 116А с восстановителями фертильности ВИР 740 (цитоплазма фертильного типа) и RIL 130 (цитоплазма стерильного типа) были отобраны по 20 фертильных и стерильных растений. Оба отцовских родителя гибридов характеризовались наличием маркеров HRG02, PPR621.5R и SRF833, специфичных для доминантного аллеля *Rfl*. Каждое растение F_2 было генотипировано с использованием маркеров HRG02, PPR621.5M, PPR621.5R, SRF833. Маркер 67N04_P в анализ не включали, поскольку из-за небольших различий в длине диагностических фрагментов (155 пн и 170 пн) дифференцировать гомо- и гетерозиготы в агарозном геле затруднительно. За редкими исключениями (по одному в каждой популяции), все фертильные растения каждой популяции имели маркеры доминантного аллеля *Rfl* (PPR621.5R, SRF833 и HRG02), а стерильные – только маркер PPR621.5M, ассоциированный с рецессивным аллелем. В популяции F_2 (ВИР 116А × ВИР 740) обнаружено два рекомбинантных генотипа. Одно растение –

Таблица 3. Варианты аллель-специфичных маркеров генов-кандидатов *Rfl* у линий генетической коллекции подсолнечника ВИР

Table 3. Variants of allele-specific markers for the *Rfl* candidate genes in lines of the VIR sunflower genetic collection

Линия/ Line	Восстановительная способность (M, R)*	Профиль маркеров*	Генотип/ genotype
Группа 1 / Group 1***			
ВИР 205А, НА 89А, ВИР 434А, ВИР 116А	-	PPR621.5M, 67N04_155	<i>rf1rf1</i>
Группа 2 / Group 2			
ВИР 340, ВИР 171, ВИР730, Сл2290, ВИР 449, ВИР 665, ВИР 692, ВИР 786, ВИР 648 ВИР 826	M	PPR621.5M, 67N04_155	<i>rf1rf1</i>
	M	PPR621.5M, 67N04_170	<i>rf1rf1</i>
Группа 3 / Group 3			
ВИР 369, ВИР 740, ВИР 743	R	HRG02, PPR621.5R, SRF833, 67N04_170	<i>Rf1Rf1</i>
ВИР 387	M	HRG02, PPR621.5M, 67N04_155	<i>rf1rf1</i>
Группа 4 / Group 4			
ВИР 365, ВИР 370	R	PPR621.5M, SRF833, 67N04_170	<i>Rf1Rf1</i>
ВИР 196, ВИР 646, ВИР 902	R	PPR621.5M, 67N04_155	<i>Rf1Rf1</i>
ВИР 801	R	PPR621.5R, SRF833, 67N04_170	<i>Rf1Rf1</i>
ВИР 631	R	PPR621.5R, 67N04_170	<i>Rf1Rf1</i>
Группа 5 / Group 5			
ВИР 263, ВИР 386, ВИР 584, ВИР 758, ВИР768, ВИР769, ВИР 772, ВИР 789, ВИР 815, ВИР 817, ВИР 833, RIL 130, ВИР846	R	HRG02, PPR621.5R, SRF833, 67N04_170	<i>Rf1Rf1</i>
ВИР 795, ВИР 819, ВИР 830, ВИР 832, ВИР 839, ВИР 840	R?	HRG02, PPR621.5R, SRF833, 67N04_170	<i>Rf1Rf1</i>
ВИР 583	R	HRG02, PPR621.5R, 67N04_170	<i>Rf1Rf1</i>
ВИР 794	R	HRG02, PPR621.5R, SRF833, 67N04_155	<i>Rf1Rf1</i>

*M – закрепитель стерильности, R – восстановитель фертильности, R? – предполагаемый восстановитель фертильности (нет данных тест-скрещиваний)

**Маркеры, специфичные для доминантного аллеля *Rfl*, выделены полужирным шрифтом

***Характеристика линий по типу цитоплазмы и наличию/ отсутствию маркера HRG02 приведена в таблице 2

*M – fertility restorer, R – sterility maintainer, R? – supposed pollen fertility restorer (data of field crosses are not available)

**Markers specific for the dominant *Rfl* allele are highlighted in bold

***Characterization of lines by cytoplasm type is given in Table 2

фертильное – имело маркер HRG02 и было гетерозиготным по маркеру PPR621.5 (SNP G/C), но маркер SRF833 у него не выявлен. Заметим, что ранее, при цитологическом анализе изменчивости морфометрических показателей пыльцы у этого растения обнаружили низкие показатели фертильности пыльцы (34%) и малый диаметр пыльцевых зёрен (22-23 мкм в отличие от 28-29 мкм у других растений (Karabitsina et al., 2019). У другого растения (стерильного) маркер HRG02 отсутствовал, но обнаружены PPR621.5R и SRF833, специфичные для доминантного аллеля. В популяции F₂ (ВИР 116А × RIL 130) выявлен один рекомбинантный генотип: фер-

тильное растение с маркерами HRG02 и PPR621.5M, но без маркеров PPR621.5R и SRF833, специфичных для доминантного аллеля.

Обсуждение

Распределение аллель-специфичных маркеров среди линий генетической коллекции, различающихся по способности к восстановлению фертильности пыльцы, подтверждает ассоциацию маркеров PPR621.5M и 67N04_P_155 с рецессивным, а PPR621.5R, SRF833 и 67N04_P_170 – с доминантными аллелями гена *Rfl*. Сцеп-

ленный характер наследования маркеров PPR621.5R и SRF833, показанный ранее (Sivolapova et al., 2023), в нашей работе подтвержден при анализе расщепляющихся гибридных популяций. В то же время в F₂ межлинейных гибридов обнаружены растения с генотипами, предположительно возникшими в результате рекомбинации между SCAR-маркером HRG02, локализованным на расстоянии 2,0 cM от локуса Rfl (Horn et al., 2003), и аллелями гена-кандидата.

Все использованные в настоящем исследовании аллель-специфичные маркеры гена *Rfl* достоверно ассоциированы со способностью к восстановлению фертильности пыльцы. Кроме того, у линий со стерильным типом цитоплазмы они также ассоциированы с наличием SCAR-маркера HRG02. Пока сложно интерпретировать результаты анализа изменчивости в линиях-восстановителях фертильности пыльцы, объединённых в группу 4 (цитоплазма стерильного типа, нет SCAR-маркера HRG02, см. табл. 2). Среди семи линий этой группы выявлено четыре различных профиля маркеров, причем лишь три линии – ВИР 196, ВИР 646 и ВИР 902 – не имели ни одного маркера, ассоциированного с доминантным аллелем (см. табл. 3). Аналогичные данные получены при оценке маркеров HRG02, PPR621.5M, PPR621.5R, 67N04 на ассоциативной панели, включавшей 557 образцов подсолнечника различного происхождения (Horn et al., 2019). В состав изученной панели входила 101 R-линия, преимущественно со стерильным типом цитоплазмы. Восемьдесят восемь R-линий характеризовались наличием маркеров доминантного аллеля. Профили маркеров 11 R-линий были характерны для носителей рецессивного аллеля *rfl*. Ещё у двух линий выявлены лишь два маркера доминантного аллеля, PPR621.5R и 67N04_170. Интересно, что большинство линий, не имевших маркеров, тем не менее, связаны происхождением с источниками доминантного аллеля *Rfl*. Так, например, линия RHA 398, не имевшая по результатам генотипирования ни одного маркера доминантного аллеля, выделена из гибрида RHA 274/BCD LINE BULK (Oil seed sunflower description..., 2024), где RHA 274 – восстановитель фертильности, в генотип которого ген *Rfl* был передан от источника, созданного с участием дикорастущего техасского подсолнечника (Baute et al., 2015).

Разнообразие профилей маркеров, специфичных для доминантного аллеля *Rfl* у линий генетической коллекции подсолнечника ВИР, по-видимому, обусловлено большим числом генов-кандидатов и протяженностью района, в котором они расположены.

Сложности идентификации генов-кандидатов в локусе Rfl связаны с большим размером генома *H. annuus*. Геном подсолнечника секвенирован, но из-за большого числа дубликаций генов и хромосомных перестроек до недавнего времени не был аннотирован полностью (Badouin et al., 2017). Пока ещё не представляется возможным полностью определить все гены-кандидаты в локусе Rfl, поскольку референсный геном представлен

линией закрепителем HanXRQ, и протяжённая область между двумя районами, содержащими потенциальные гены-кандидаты (30 и 3,9 миллионов пар оснований), не аннотирована (Horn et al., 2019). Кроме того, в процессе селекции линии-восстановители фертильности пыльцы имели повторные интрогрессии генетического материала от диких видов и, следовательно, могли возникать перестройки района локализации генов-кандидатов *Rfl* (Baute et al., 2015; Horn et al., 2019).

Заключение

В настоящей работе на материале генетической коллекции подсолнечника ВИР подтверждена диагностическая ценность аллель-специфичных маркеров гена *Rfl* 67N04_P, PPR621.5R, PPR621.5M и SRF833 для генотипирования линий подсолнечника по локусу Rfl и использования их в маркер-опосредованной селекции.

Установлено, что линии с одинаковым фенотипом, способностью к восстановлению фертильности пыльцы или закреплению стерильности характеризуются различными сочетаниями маркеров. Сделано заключение о гаплотипах локуса Rfl у линий генетической коллекции подсолнечника ВИР. Подтверждена перспективность маркеров PPR621.5M, PPR621.5R, SRF833 и 67N04_P для отбора носителей доминантных и рецессивных аллелей гена *Rfl* в маркер-опосредованной селекции подсолнечника.

References/Литература

- Abratti G., Bazzalo M.E., Leon A. Mapping a novel fertility restoration gene in sunflower. In: *Proceedings of the 17th International Sunflower Conference; 2008 June 8-12; Cordoba, Spain*. Consejería de Agricultura y Pesca; 2008. Vol. 2. P. 617-621. Available from https://www.isasunflower.org/fileadmin/documents/aaProceedings/17thISC_CordobaVol2/617sonia.pdf [accessed Nov. 15, 2024]
- Anashchenko A.V., Duka M.V. Study of the genetic system of CMS-*Rf* in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Communication II. Restoration of male fertility in hybrids based on CMS. *Genetika*. 1985;21(12):1999-2004. [in Russian] (Анащенко А.В., Дука М.В. Изучение генетической системы ЦМС-*Rf* у подсолнечника (*Helianthus annuus* L.). Сообщение II. Восстановление мужской фертильности у гибридов на основе ЦМС. *Генетика*. 1985;21(12):1999-2004).
- Anisimova I.N., Karabitsina Yu.I., Alpatieva N.V., Kuznecova E.B., Titov N.V., Lyutko A.Yu., Gavrilova V.A. Diagnostic value of *Rfl* gene molecular markers in sunflower. *Biotechnology and Plant Breeding*. 2021;4(2):28-37. [in Russian] (Анисимова И.Н., Карабицина Ю.И., Алпатьева Н.В., Кузнецова Е.Б., Титов Н.В., Лютко А.Ю., Гаврилова В.А. Диагностическая ценность молекулярных маркеров гена *Rfl* подсолнечника. *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(2):28-37). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-2-03
- Badouin H., Gouzy J., Grassa C.J., Murat F., Staton S.E., Cottret L., Lelandais-Brière C., Owens G.L., Carrère S., Mayjonade B., Legrand L., Gill N., Kane N.C., Bowers J.E., Hubner S., Bellec A., Bérard A., Bergès H., Blanchet N., Boniface M.-C., Brunel D., Catrice O., Chaidir N., Claudel C., Donnadiou C., Faraut T., Fievet G., Helmstetter N., King M., Knapp S.J., Lai Z., Le Paslier M.-C., Lippi Y., Lorenzon L., Mandel J.R., Marage G., Marchand G., Marquand E., Bret-Mestries E., Morien E., Nambeesan S., Nguyen T., Pegot-Espagnet P., Pouilly N.,

- Raftis F., Sallet E., Schiex T., Thomas J., Vandecasteele C., Varès D., Vear F., Vautrin S., Crespi M., Mangin B., Burke J.M., Salse J., Muñoz S., Vincourt P., Loren H., Rieseberg L.H., Langlade N.B. The sunflower genome provides insights into oil metabolism, flowering and Asterid evolution. *Nature*. 2017;546:148-152. DOI: 10.1038/nature22380
- Baute G.J., Kane N.C., Grassa C.J., Lai Z., Rieseberg L.H. Genome scans reveal candidate domestication and improvement genes in cultivated sunflower, as well as post-domestication introgression with wild relatives. *New Phytologist*. 2015;206(2):830-838. DOI: 10.1111/nph.13255
- Choudhari A.K., Bagade A.B. Diverse cytoosteriles in sunflower: a review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2019;8(11):1641-1644. DOI: 10.20546/ijcmas.2019.811.189
- Feng J., Jan C.C. Introgression and molecular tagging of *Rf₄*, a new male fertility restoration gene from wild sunflower *Helianthus maximiliani* L. *Theoretical and Applied Genetics*. 2008;117(2):241. DOI: 10.1007/s00122-008-0769-4
- Gavrilova V.A., Anisimova I.N., Alpatyeva N.V., Rozhkova V.T., Stupnikova T.G., Karabitsina Yu.I., Kuznetsova E.B. Catalogue of the VIR global collection. Iss. 853. Genetic collection of sunflower (Geneticheskaya kolleksiya podsolnechnika). St. Petersburg: VIR; 2017. [in Russian] (Гаврилова В.А., Анисимова И.Н., Алпатьева Н.В., Рожкова В.Т., Ступникова Т.Г., Карабичина Ю.И., Кузнецова Е.Б. Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 853. Генетическая коллекция подсолнечника. Санкт-Петербург: ВИР; 2017).
- Goryunov D.V., Anisimova I.N., Gavrilova V.A., Chernova A.I., Sotnikova E.A., Martynova E.U., Boldyrev S.V., Ayupova A.F., Gubaev R.F., Mazin P.V., Gurchenko E.A., Shumskiy A.A., Petrova D.A., Garkusha S.V., Mukhina Z.M., Benko N.I., Demurin Y.N., Khaitovich P.E., Goryunova S.V. Association mapping of fertility restorer gene for CMS PET1 in sunflower. *Agronomy*. 2019;9(2):49. DOI: 10.3390/agronomy9020049
- Heiser C.B. Hybridization in the annual sunflowers: *Helianthus annuus* × *H. debilis* var. *cucumerifolius*. *Evolution*. 1951;5(1):42-51. DOI: 10.2307/2405429
- Horn R., Köhler R.H., Zetsche K. A mitochondrial 16 kDa protein is associated with cytoplasmic male sterility in sunflower. *Plant Molecular Biology*. 1991;17(1):29-36. DOI: 10.1007/BF00036803
- Horn R., Kusterer B., Lazarescu E., Prüfe M., Friedt W. Molecular mapping of the *Rfl* gene restoring fertility in PET1-based F1 hybrids in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2003;106:599-606. DOI: 10.1007/s00122-002-1078-y
- Horn R., Radanovic A., Fuhrmann L., Sprycha Y., Hamrit S., Jockovic M., Miladinovic D., Jansen C. Development and validation of markers for the fertility restorer gene *Rfl* in sunflower. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(6):1260. DOI: 10.3390/ijms20061260
- Jan C.C., Vick B.A., Miller J.F., Kahler A.L., Butler E.T. Construction of an RFLP linkage map for cultivated sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*. 1998;96(1):15-22. DOI: 10.1007/s001220050703
- Jan C.C., Vick B.A. Inheritance and allelic relationships of fertility restoration genes for seven new sources of male-sterile cytoplasm in sunflower. *Plant Breeding*. 2007;126(2):213-217. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2007.01350.x
- Karabitsina Y.I., Gavrilova V.A., Alpatyeva N.V., Kuznetsova E.B., Anisimova I.N. Peculiarities of inheritance of pollen fertility restoration trait in sunflower with cytoplasmic male sterility. *Russian Journal of Genetics*. 2019;55:1375-1382. DOI: 10.1134/S1022795419110073
- Kinman M.L. New developments in the USDA and state experiment station sunflower breeding programs. In: *Proceedings of the 4th International Sunflower Conference; 1970 June 23-25; Memphis, Tennessee, USA*. 1970. P. 181-183. Available at: <https://www.isasunflower.org/fileadmin/documents/Proceedings/4thISC1970/T1970BRE08.pdf> [accessed Nov. 15, 2024].
- Leclercq P. Une stérilité cytoplasmique chez le tournesol. *Annales de l'Amélioration des Plantes*. 1969;19(2):99-106. [In French]
- Li J.T., Yang J., Chen D.C., Zhang X.L., Tang Z.S. An optimized mini-preparation method to obtain high-quality genomic DNA from mature leaves of sunflower. *Genetics and Molecular Research*. 2007;6(4):1064-1071.
- Liu Z., Mulpuri S., Feng J., Vick B.A., Jan C.-C. Molecular mapping of the *Rf₁* fertility restoration gene to facilitate its utilization in breeding confection sunflower. *Molecular Breeding*. 2012;29:275-284. DOI: 10.1007/s11032-011-9563-0
- Liu Z., Wang D., Feng J., Seiler G.J., Cai X., Jan C.-C. Diversifying sunflower germplasm by integration and mapping of a novel male fertility restoration gene. *Genetics*. 2013;193(3):727-37. DOI: 10.1534/genetics.112.146092
- Liu Z., Zhang L., Seiler G.J., Jan C.-C. Molecular mapping of the *Rf₉* gene from RCMG 1 for CMS ANN3 derived from wild sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Euphytica*. 2023;219:46. DOI: 10.1007/s10681-023-03176-3
- NCBI. National Center for Biotechnology Information. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov> [accessed Nov. 15, 2024].
- Oil seed sunflower description of released restorer line germplasm. Available from: <https://www.ag.ndsu.edu/fss> North Dakota Foundation Seedstocks [accessed Nov. 15, 2024].
- Polivanova O.B., Sivolapova A.B., Goryunov D.V., Fedorova A.V., Sotnikova E.A., Chebanova Y.V., Karabitsina Y.U.; Benko N.I., Demurin Y.N., Goryunova S.V. Structural diversity of sunflower (*Helianthus annuus* L.) candidate *Rfl* loci based on gene-specific PCR. *Research on Crops*. 2021;22(1):40-46. DOI: 10.31830/2348-7542.2021.034
- Qi L.L., Seiler G.J., Hulke B.S., Vick B.A., Gulya T.J. Genetics and mapping of the *R₁₁* gene conferring resistance to recently emerged rust races, tightly linked to male fertility restoration, in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2012;125:921-932. DOI: 10.1534/genetics.112.146092
- Radanović A.; Sprycha Y.; Jocković M.; Sundt M.; Miladinović D.; Jansen C.; Horn R. KASP markers specific for the fertility restorer locus *Rfl* and application for genetic purity testing in sunflowers (*Helianthus annuus* L.). *Genes*. 2022;13:465. DOI: 10.3390/genes13030465
- Sajer O., Schirmak U., Hamrit S., Horn R. Mapping of the new fertility restorer gene *Rf-PET2* close to *Rfl* on linkage group 13 in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Genes*. 2020;11:269. DOI: 10.3390/genes11030269
- Schnabel U., Engelmann U., Horn R. Development of markers for the use of the PEF1 cytoplasm in sunflower hybrid breeding. *Plant Breeding*. 2008;127(6):587-591. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2008.01516.x
- Serieys H. Identification, study, utilization in breeding programs of new CMS sources. In: *Proceedings of the Sunflower Subnetwork Progress Report; 2005 July 17-20; Novi Sad, Serbia and Montenegro*. Rome, Italy: FAO. 2005. P. 47-53.
- Sivolapova A.B., Polivanova O.B., Goryunov D.V., Chebanova Y.V., Fedorova A.V., Sotnikova E.A., Karabitsina Y.I., Benko N.I., Mukhina Z.M., Anisimova I.N., Demurin Y.N., Goryunova S.V. Refinement of *Rfl*-gene localization and development of the new molecular markers for fertility restoration in sunflower. *Molecular Biology Reports*. 2023;50(9):7919-7926. DOI: 10.1007/s11033-023-08646-4
- Talukder Z., Ma G., Hulke B., Jan C.-C., Qi L. Linkage mapping and genome-wide association studies of the *Rf* gene cluster in sunflower (*Helianthus annuus* L.) and their distribution in world sunflower collections. *Frontiers in Genetics*. 2019;10:216. DOI: 10.3389/fgene.2019.00216
- Trubacheeva N.V., Salina E.A., Shumny V.K., The use of CMS/*Rf* system for sunflower hybrid breeding. *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2024;10(2):119-131. [in Russian] (Трубачеева Н.В., Салина Е.А., Шумный В.К. Использование системы ЦМС-*Rf* в гибридной селекции подсолнечника. *Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2024;10(2):119-131). DOI: 10.18699/letvjgb-2024-10-14
- Yue B., Vick B.A., Cai X., Hu J. Genetic mapping for the *Rfl* (fertility restoration) gene in sunflower (*Helianthus annuus* L.) by SSR and TRAP markers. *Plant Breeding*. 2010;129:24-28. DOI: 10.1111/j.14390523.2009.01661.x

Информация об авторах

Ирина Николаевна Анисимова, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, irina_anisimova@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0474-8860>

Наталья Владимировна Алпатьева, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, alpatievanatalia@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5531-2728>

Мария Константиновна Рязанова, аспирант, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42,44, m.ryazanova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4444-3658>

Роман Дмитриевич Бердиган, студент, Санкт-Петербургский государственный университет (СПбГУ), 199034 Россия, Санкт-Петербург, Университетская набережная, 7–9, rberdigan@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0008-1706-0022>

Евгений Евгеньевич Радченко, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий отделом, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, eugene_radchenko@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3019-0306>

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

Information about the authors

Irina N. Anisimova, Dr. Sci. (Biology), Leading Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, irina_anisimova@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0474-8860>

Natalia V. Alpatieva, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, alpatievanatalia@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5531-2728>

Maria K. Ryazanova, PhD Student, Federal Research Center N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, m.ryazanova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4444-3658>

Roman D. Berdigan, Student, St. Petersburg State University (SPbSU), 7-9, Universitetskaya Embankment, St. Petersburg, 199034 Russia, rberdigan@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0008-1706-0022>

Evgeny E. Radchenko, Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher, Head of Department, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, eugene_radchenko@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3019-0306>

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

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 12.12.2024; одобрена после рецензирования 21.12.2024; принята к публикации 25.12.2024.

The article was submitted on 12.12.2024; approved after reviewing on 21.12.2024; accepted for publication on 25.12.2024.

Научная статья

УДК 634.7:577.21

DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-06



Разработка мультиплексного набора микросателлитных маркеров для генетической идентификации черной смородины (*Ribes nigrum* L.)

М. В. Модоров, О. А. Киселева, М. А. Полежаева, Е. М. Чеботок

Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр, Екатеринбург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Ольга Анатольевна Киселева, kiselevaolga@inbox.ru

Актуальность. Для черной смородины (*Ribes nigrum* L.) к настоящему времени не предложена эффективная технология генетической идентификации сортообразцов. В частности, существующие решения с использованием микросателлитных маркеров предполагают амплификацию отдельных локусов в нескольких пробирках, что относительно ресурсоемко и требует оптимизации. **Материалы и методы.** Проанализированы имеющиеся решения для генетической идентификации сортообразцов черной смородины с использованием микросателлитных локусов. Отобрано восемь маркеров, расположенных в различных группах сцепления (g1-K04, g2-J08, e4-D03, g2-L17, e3-B02, g1-A01, e1-O01 и g2-G12). В ходе работы оптимизированы набор маркеров с непересекающимися длинами фрагментов, состав и температурный профиль полимеразной цепной реакции (ПЦР), позволяющие проводить амплификацию данных маркеров «в одной пробирке». Методика была протестирована на 33 сортообразцах генетической коллекции черной смородины Свердловской селекционной станции садоводства. **Результаты.** Подобраны условия проведения ПЦР и флуорохромы, позволяющие проводить амплификацию данных маркеров «в одной пробирке» и получать неперекрывающиеся длины фрагментов. Получены генетические профили 33 сортообразцов, по которым можно провести их однозначную идентификацию. Число аллелей в отобранных локусах составило от трех до одиннадцати. **Заключение.** Впервые предложена мультиплексная реакция, которая позволяет проводить оценку изменчивости восьми локусов смородины черной «в одной пробирке». Интерес представляет тестирование предложенной технологии на широком спектре сортообразцов черной смородины, полученных в различных регионах мира, а также на других видах рода *Ribes*, используемых в селекции черной смородины.

Ключевые слова: SSR, микросателлиты, ПЦР, генетическая идентификация

Благодарности: Исследование выполнено на базе Уникальной научной установки коллекции живых растений открытого грунта «Генофонд плодовых, ягодных и декоративных культур на Среднем Урале» (Свердловская ССС ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН г. Екатеринбург) в соответствии с темой государственного задания «Комплексная оценка генофонда ягодных культур с помощью молекулярно-генетических и биотехнологических методов в селекции на улучшение хозяйственно-ценных признаков на Урале» (FNUW-2024-0007)

Для цитирования: Модоров М.В., Киселева О.А., Полежаева М.А., Чеботок Е.М. Разработка мультиплексного набора микросателлитных маркеров для генетической идентификации черной смородины (*Ribes nigrum* L.). *Биотехнология и селекция растений*. 2024;7(4):68-81. DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-06

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

© Модоров М.В., Киселева О.А., Полежаева М.А., Чеботок Е.М., 2024

Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-o6

Development of multiplex microsatellite markers set for black currant (*Ribes nigrum* L.) genetic identification

Makar V. Modorov, Olga A. Kiseleva, Maria A. Polezhaeva, Elena M. Chebotok

Ural Federal Agrarian Research Centre, Ekaterinburg, Russia

Corresponding author: Olga A. Kiseleva, kiselevaolga@inbox.ru

Background. At present, there is no effective technology for the genetic identification of black currant (*Ribes nigrum* L.) cultivars. Current solutions involve the amplification of genetic markers (microsatellites) in multiple tubes, which is relatively resource-intensive and require optimization. **Materials and methods.** The existing approaches for the genetic identification of black currant cultivars using microsatellite loci were analyzed. Eight markers located in different linkage groups, namely g1-K04, g2-J08, e4-D03, g2-L17, e3-B02, g1-A01, e1-O01 and g2-G12, were selected. Various combinations of polymerase chain reaction (PCR) mix composition, fluorophores, temperature and heating time were tested to find conditions that would allow amplification of these markers in one tube and produce non-overlapping fragment lengths. The method was tested on eight cultivars and further on 33 cultivars from the genetic collection of the Sverdlovsk Selection Station of Horticulture. **Results.** PCR conditions and fluorophores were chosen to amplify the selected markers in one tube and to get non-overlapping fragment lengths. Genetic profiles of 33 cultivars were obtained, allowing their unambiguous identification. The number of alleles at the selected loci ranged from three to eleven. **Conclusion.** For the first time, the multiplex reaction made it possible to assess the variability of eight black currant loci by one-tube multiplex PCR. It is of interest to test the proposed technology on a wide range of black currant cultivars obtained in different regions of the world, as well as on other species of the genus *Ribes* used in black currant breeding process.

Keywords: SSR, microsatellite, PCR, genetic identification

Acknowledgements: The study was carried out on the basis of the Unique Scientific Facility of the Open Ground Live Plant Collection “Gene Pool of Fruit, Berry and Ornamental Crops in the Middle Urals” (Sverdlovsk Selection Station of Horticulture of the Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg) in accordance with the topic of the State Assignment “Comprehensive assessment of the gene pool of berry crops using molecular genetics and biotechnological methods in breeding to improve economically valuable traits in the Urals” (FNUW-2024-0007)

For citation: Modorov M.V., Kiseleva O.A., Polezhaeva M.A., Chebotok E.M. Development of multiplex microsatellite markers set for black currant (*Ribes nigrum* L.) genetic identification. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2024;7(4):68-81. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-o6

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.

© Modorov M.V., Kiseleva O.A., Polezhaeva M.A., Chebotok E.M., 2024

Введение

Определение сортовой принадлежности сельскохозяйственных культур важно для поддержки сортовой чистоты, идентификации образцов гибридного фонда, а главное – защиты прав оригинатора. Классические методы определения опираются на морфологические признаки растений, что не всегда удобно, поскольку для проведения анализа необходимо наблюдение и тщательное проведение морфометрических измерений растений в ходе целого вегетационного сезона, а также сопоставление признаков с номенклатурным стандартом. Кроме того, число фенотипических маркеров относительно невелико, что во многих случаях затрудняет дифференциацию родственных сортообразцов. Использование молекулярно-генетических методов может значительно облегчить и ускорить данную трудоемкую процедуру.

К настоящему времени для идентификации индивидов (включая клоны), либо их групп (популяций, этносов, пород, ряда сортов) в качестве генетических маркеров наиболее часто используют однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП, *single nucleotide polymorphisms*, SNP), либо ядерные микросателлиты (*simple sequence repeats*, SSR) (ICAR guidelines, 2022; Testolin et al., 2022; Montanari et al., 2023). С учетом себестоимости проведения тестов и приборного оснащения лабораторий на территории РФ, разработка и совершенствование панелей микросателлитных маркеров для определения сортовой принадлежности сельскохозяйственных культур выглядит более востребованной технологией, нежели использование ОНП (Testolin et al., 2022).

Ядерные микросателлиты – участки ядерной ДНК, в которых повторяется мотив длиной от двух до девяти нуклеотидов, а число повторов, как правило, варьирует от пяти до 40. Аллельное разнообразие возникает за счет разницы в числе повторов, которое проявляется в различиях длин фрагментов ПЦР-продуктов. Анализ профилей индивидуальной аллельной изменчивости локусов осуществляется путем электрофоретического разделения фрагментов (Galinskaya et al., 2019). При разработке панели микросателлитных маркеров для сортовой идентификации необходимо учитывать несколько критериев. Требования, связанные непосредственно с объектом исследования, заключаются в подборе локусов, которые охватывают как можно большее количество групп сцеплений, производят отбор локусов, расположенных на разных хромосомах, либо в пределах одной хромосомы, но на значительном удалении друг от друга; количество локусов должно обладать достаточной дифференцирующей силой, чтобы разделять все или большинство сортообразцов в коллекции. Требования к технической стороне подготовки панели заключаются в оптимизации проведения процесса, чтобы сократить себестоимость анализа. Таким образом, для создания мультиплексной полимеразной цепной реакции (мультиплексной ПЦР), проводимой «в одной пробирке» (*one-tube multiplex PCR*)

необходимо подобрать локусы с неперекрывающимися длинами фрагментов ПЦР продуктов; сочетание флуорофоров с неперекрывающимися каналами детекции; подобрать условия ПЦР реакции, а именно подготовку смеси и температурный профиль так, чтобы избежать конкуренции разных праймеров и иметь стабильный выход продукта для каждого из локусов. Кроме того, следует тщательно подобрать концентрации меченых флуорофорами праймеров во избежание перекрытия пиков флуоресценции разных каналов детекции (в англоязычной литературе это явление называется *pull-up peaks*) с целью получения однозначно интерпретируемых электрофореграмм. Поиск технологий, отвечающих вышеприведенным требованиям, ведется для плодовых и ягодных культур, обладающих высокой экономической значимостью. Так мультиплексные наборы для генетической идентификации с использованием более восьми микросателлитных маркеров «в одной пробирке» разработаны для яблони (*Malus × domestica*) (Смежлова et al., 2021), груши (род *Pyrus*) (Zurn et al., 2020), винограда (род *Vitis*) (Sekridova et al., 2022) и голубики (род *Vaccinium*) (Bassil et al., 2020).

Актуальность разработки подобной технологии для черной смородины (*Ribes nigrum* L.) обусловлена востребованностью культуры (плодов, листьев, почек) в пищевой, фармацевтической и вино-водочной промышленности (Petrova, Kuznetsova, 2014), а также наличием большого числа сортов, используемых для промышленного и любительского садоводства (Knyazev, Ogol'cova, 2004; Knyazev et al., 2016). Культурные формы черной смородины широко возделываются в Северном полушарии. Наиболее успешно селекционные программы реализуются в Польше, Англии, Белоруссии, Украине, Швеции, Литве, Финляндии, Румынии, Китае и России (Sazonov, 2018; Knyazev, Ogol'cova, 2004). Современный отечественный сортимент создается на основе межсортных, внутри- и межвидовых скрещиваний потомков европейского *Ribes nigrum* ssp. *europaeum* (Jancz.) и сибирского *R. nigrum* ssp. *sibiricum* (E.W.) подвидов смородины черной, смородины скандинавской *R. nigrum* ssp. *scandicum* Hedl., а также с привлечением других видов черноплодных смородин, а именно смородины дикуши *R. dikuscha* Fisch. ex Turcz., смородины малоцветковой *R. pauciflorum* Turcz. ex Pojark., смородины моховки *R. procumbens* Pall. и прочих (Gabysheva, 2019; Knyazev, Bakhotskaya, 2018). Несмотря на наличие разработанных генетических маркеров (Brennan et al., 2002; 2008), пригодных для индивидуальной идентификации сортообразцов черной смородины, технологии мультиплексного анализа этих маркеров до настоящего времени не предложено (Antonius et al., 2012; Brennan et al., 2002; 2008; Cavanna et al., 2009; Dolzhikova et al., 2020; Mezhnina, Urbanovich, 2017; Palmieri et al., 2013; Pikunova et al., 2015). В данной работе мы рассматриваем имеющиеся подходы к генетической идентификации сортообразцов черной смородины и предлагаем перспективный для решения данной задачи

способ мультиплексной ПЦР «в одной пробирке».

Обзор имеющихся решений для генетической идентификации сортообразцов черной смородины

В базе NCBI (National Center for Biotechnology Information, USA) представлены полные геномы хлоропластов *Ribes nigrum* (Sun et al., 2023), а также митохондрий (Lu et al., 2024), однако данные о последовательности ядерного генома данного вида весьма ограничены. Поэтому при выборе ядерных микросателлитных локусов мы ориентировались на ранее разработанные маркеры, для чего провели обзор данных литературы, посвященных генетической идентификации черной смородины, либо анализу филогении рода *Ribes*, включающему *R. nigrum*. По результатам поиска было отобрано восемь публикаций (Antonius et al., 2012; Brennan et al., 2002; 2008; Cavanna et al., 2009; Dolzhikova et al., 2020; Mezhnina, Urbanovich, 2017; Palmieri et al., 2013; Pikunova et al., 2015). Во всех этих работах для анализа генетической изменчивости черной смородины были использованы SSR-маркеры, предложенные в двух работах Р. Бреннана с соавторами, опубликованных в 2002 и 2008 годах (Brennan et al., 2002; 2008). Первая панель SSR-маркеров, разработанная для черной смородины, включала 11 локусов, обозначенных RJL-1(-11) (Brennan et al., 2002). Для этих локусов был описан мотив, ожидаемый размер фрагментов и число аллелей, полученных при анализе нескольких видов рода *Ribes*. В 2008 году опубликованы данные о локализации 40 микросателлитных локусов черной смородины в семи группах сцепления (Brennan et al., 2008). Для предложенных локусов была приведена информация о последовательностях праймеров, однако данные о числе аллелей и мотиве отсутствовали.

Названия локусов в публикациях Р. Бреннана с соавторами в 2002 и 2008 годов различаются, однако, проведенное нами сравнение последовательностей праймеров, предложенных для этих маркеров, показало, что в ряде случаев они полностью совпадают. В частности, для пар локусов g1-K04 и RJL-6, g1-M07 и RJL-7, g1-P08 и RJL-10 совпадают последовательности прямых «F» праймеров и обратно-комплементарные последовательности обратных «R» праймеров. У локусов g1-P05 и RJL-5 совпадают только последовательности «F» праймера. Для картированных в пятой хромосоме локусов g1-A01 и g1-L12 отмечены совпадения последовательностей праймеров, используемых для локусов RJL-11 и RJL-2 (табл. 1). Выявленные совпадения позволяют картировать часть локусов, предложенных Р. Бреннаном с соавторами в 2002 году (Brennan et al., 2002). В 2014 году методом генотипирования путем секвенирования (genotyping by sequencing) без прочтения референсного генома черной смородины были уточнены позиции генетических маркеров, описанных Р. Бреннаном с соавторами в 2008 году (Russell et al., 2014, см. табл. 1). Отметим, что сам вид смородина чер-

ная и большинство её сортообразцов имеют диплоидный набор хромосом ($2n=16$), а разработанные микросателлитные маркеры, представленные в таблице 1, локализованы в семи хромосомах. Микросателлитные маркеры восьмой хромосомы не описаны.

Одно из требований к генетическим маркерам, используемым при проведении популяционно-генетических исследований, заключается в их несцепленном наследовании. Игнорирование этого требования приводит к тому, что участки генома, представленные в исследовании несколькими сцепленно наследуемыми локусами, вносят непропорционально большой вклад в оценку величины различий между особями или группами особей. В случае филогенетического анализа это может привести к появлению результатов, невозможных при использовании иных панелей генетических маркеров. Сцепленное наследование приводит к снижению индексов индивидуальной идентификации особей (Hedrick, 2010). Важно отметить, что многие локусы, предложенные в работе Р. Бреннана с соавторами в 2008 году (Brennan et al., 2008), локализованы в пределах одной хромосомы на незначительном расстоянии друг от друга (см. табл. 1). Для решения задач генетической идентификации подобные локусы оправдано рассматривать как сцепленные и не использовать в одном анализе. В проведенной нами работе мы приняли, что локусы, расположенные на различных хромосомах, либо на одной хромосоме на удалении более 20 сМ (сантиморганов, % рекомбинации) наследуются несцепленно. Анализ позиций локусов, приведенных в таблице 1 показывает, что при установлении подобного требования 40 SSR-маркеров, предложенных Р. Бреннаном с соавторами (Brennan et al., 2008), локализируются в 10 группах сцепления (LG).

При выборе локусов для мультиплекса мы провели анализ методики и результатов ранее проведенных исследований изменчивости SSR-маркеров черной смородины (табл. 2). Внимание было обращено на перечисленные ниже показатели и особенности маркеров: во-первых, на наличие сложностей при работе с локусом, например, плохое качество электрофоретического разделения ПЦР-продукта, в особенности присутствие неспецифических фрагментов; во-вторых, на число аллелей в локусе: при выборе маркера предпочтение отдавали локусу с большим числом аллелей; в-третьих, на размер фрагментов – оценка показателя необходима для разделения в мультиплексе фрагментов, меченных одним флуорофором; в-четвертых, на температуру отжига праймеров, поскольку при высокой температуре отжига – при прочих равных условиях – количество образующихся неспецифических фрагментов ниже, что особенно важно в мультиплексной реакции (Rebrikov et al., 2023), поэтому интерес представляли локусы, для которых температура отжига составляла не менее 59°C; в-пятых, на величину мотива, наличие в локусе фрагментов, различающихся на одну пару нуклеотидов. Наличие подобных фрагментов услож-

Таблица 1. Микросателлитные маркеры смородины черной

Table 1. Microsatellite markers of black currant

№	Название локуса/ Locus name		Хромосома/ Chromosome	Позиция, сМ/ Position, cM	LG
	Brennan et al., 2008	Brennan et al., 2002**			
1	g1-O17	-	1	39,28	I
2	g1-K04	RJL-6 (F, R RC)	1	39,78	
3	g2-P03	-	1	41,46	
4	e1-O20	-	1	45,62	
5	gr2-J05	-	1	46,62	
6	g2-D05	-	1	51,1	
7	g1-P05	RJL-5 (F)	1	53,54	
8	g1-M07	RJL-7 (F, R RC)	1	55,91	
9	g1-E03*	-	1	45	
10	g1-G06	-	2	51,5	II
11	g1-B02	-	2	54,44	
12	g1-P01	-	2	54,47	
13	g2-J08	-	2	55,04	
14	gr1-F07	-	2	55,08	IIIa
15	e4-D03	-	3	0,5	
16	g2-B20	-	3	59,86	IIIb
17	g2-M19	-	3	60,09	
18	e3-M04	-	3	63,68	
19	g1-P08	RJL-10 (F, R RC)	4	61,35	IV
20	gr2-N24	-	4	61,40	
21	g1-F04	-	4	61,43	
22	gr2-N15	-	4	61,47	
23	e1-O21	-	4	61,56	
24	g2-L17	-	4	62,30	
25	g2-H21	-	4	64,01	
26	e3-B02	-	5	6,70	Va
27	g2-N20	-	5	35,55	Vb
28	g1-H09	-	5	38,99	
29	g1-A01	RJL-11 (F), RJL-2 (R RC)	5	40,68	
30	g1-L12	RJL-2 (F), RJL-11 (R RC)	5	40,75	
31	g1-O02	-	5	54,95	
32	e2-L15*	-	5	53	
33	g1-D11	-	6	15,15	VIa
34	g1-I02	-	6	16,60	
35	e1-O01	-	6	16,61	VIb
36	g1-P21	-	6	37,02	
37	g2-G12	-	7	69,44	VII
38	g3-A17	-	7	69,51	
39	g1-G11	-	7	69,58	
40	g2-J11	-	7	69,60	

Примечание. Номер хромосомы и позиция приведены согласно Russell et al., 2014, группы сцепления (LG) выделены нами для решения задач данной работы (объяснения в тексте). * – в работе Russell et al., 2014 данные о позиции данных маркеров отсутствуют, позиция приведена согласно Brennan et al., 2008. ** – в работе Brennan et al., 2002 информация о локализации локусов в хромосомах не приведена, заключение о позиции маркеров сделано на основании полного совпадения последовательностей праймеров, приведенных в работах Brennan et al., 2002 и Brennan et al., 2008. Используются обозначения F – прямой праймер, R_RC – последовательность, обратнo-комплементарная обратному праймеру R.

Note. The chromosome number and position are given according to Russell et al., 2014, linkage groups (LG) were identified by us to solve the problems of this work (see explanations in the text). * – the work of Russell et al., 2014 contains no data on the position of these markers; positions are given according to Brennan et al., 2008. ** – the work of Brennan et al., 2002 provides no information on the localization of loci in chromosomes; a conclusion on the position of markers is made on the basis of a complete match of the primer sequences provided in the works of Brennan et al., 2002 and Brennan et al., 2008. Designations used: F – forward primer, R_RC – sequence reverse complementary to reverse primer R.

няет расшифровку электрофореграмм и может свидетельствовать либо о присутствии нескольких мотивов в локусе, либо о наличии в локусе иной изменчивости, нежели различия числа мотивов. В любом случае, использование подобных локусов в мультиплексе нежелательно. Во всех упомянутых выше публикациях авторы не сообщают об использовании мультиплексной ПЦР-реакции, из чего можно сделать заключение, что оптимизации методики для мультилокусного анализа «в одной пробирке» не проводилось.

Температура отжига праймеров в одной серии работ (Cavanna et al., 2009; Pikunova et al., 2015; Dolzhikova et al., 2020) составляет от 50 до 56°C, в другой же публикации (Palmieri et al., 2013) был использован температурный градиент от 60°C до 55°C со снижением температуры на 0,5°C на цикл. В связи с этим при выборе маркеров мы ориентировались на панель локусов, использованную в последней публикации (Palmieri et al., 2013). На основании проанализированных данных для разрабатываемого мультиплекса нами было отобрано десять маркеров с высоким полиморфизмом, расположенных в различных группах сцепления (LG), и с учетом ожидаемых размеров фрагментов, потенциально способных быть объединенными в мультиплекс «в одной пробирке», а именно: g1-K04, g2-J08, e4-D03, e3-M04, e1-O21, g2-L17, e3-B02, g1-A01, e1-O01 и g2-G12. Два локуса, e1-O21 и g2-L17, которые располагаются в IV группе сцепления, были отобраны с тем расчетом, что по результатам предварительной работы будет выбран только один из них.

Материалы и методы

Для анализа были отобраны и высушены в силикагеле листья 33 сортообразцов из генетической коллекции черной смородины Свердловской селекционной станции садоводства – структурного подразделения ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН. Выбранные сорта входят в реестровые списки селекционных достижений разных стран (Россия, Украина, Беларусь, Великобритания), различаются по происхождению и распространению (табл. 3).

ДНК выделяли по стандартному протоколу для растительных тканей, а именно использовали СТАВ-метод с модификацией в виде двойной очистки смесью с изомилхлороформом (Devey et al., 1996). Качество выделенной ДНК проверяли путем горизонтального электрофореза в агарозном геле. ПЦР проводили в реакционной смеси объемом 10 мкл содержащей 1 × Taq Turbo буфер, 1,25 единиц Taq ДНК-полимеразы (Евроген, РФ, кат. №РК113, буфер содержит MgCl₂), дополнительно 1,15 mM MgCl₂, 0,5 mM каждого dNTP, 5%DMSO, 50-100 нг ДНК. Финальный состав праймеров и их концентрации приведены в таблице 4. Как указано, 5' конец каждого прямого (F) праймера был помечен одним из четырех флуорофоров: FAM, R6G, TAMRA, ROX.

Финальные концентрации праймеров получены

в результате нескольких, не менее 10, последовательных этапов отбора. Выбранная смесь позволяет получать пики флуоресценции, относительно высокие и неперекрывающиеся в случае использования разных каналов детекции (англ. pull-up peaks). Заметные различия в финальных концентрациях праймеров отчасти связаны со способностью используемого генетического анализатора считывать значения свечения для различных флуорофоров, при прочих равных условиях интенсивность их флуоресценции снижается в ряду FAM – R6G – TAMRA – ROX. Поэтому концентрация праймеров, меченных ROX и TAMRA, выше, чем для FAM и R6G, что видно из таблицы 4. Помимо этого, различия концентраций праймеров могут быть обусловлены спецификой требований к условиям ПЦР: если условия не оптимальны, то это может быть компенсировано увеличением концентрации праймера.

На этапе отработки мультиплекса было рассмотрено несколько вариантов концентрации DMSO, BSA и MgCl₂. По результатам работы было сделано заключение, что добавление BSA не влияет на качество ПЦР, 5% DMSO дает наилучший результат реакции, увеличение его концентрации влияет на протекание ПЦР негативно, однако его исключение из смеси реагентов приводит к незначительному снижению выхода продукта ПЦР. Добавление MgCl₂ в концентрациях 1,15 mM, 3,3 mM, 4,45 mM не отражается на получаемых электрофореграммах, поэтому мы использовали наименьшую из этих концентраций.

Термоциклирование (ПЦР) проводили с использованием прибора CFX96 Touch (Bio-Rad, USA) по следующему протоколу: 95°C – 3 мин, затем 35 циклов [94°C – 30 сек, 59°C – 45 сек, 72°C – 30 сек], финальная элонгация в течение 30 минут при 68°C, скорость нагрева проб от 59 до 72°C устанавливали равной 0,3°C/сек. Длины амплифицированных фрагментов определяли на генетическом анализаторе Нанофор-05 (“Синтол”, РФ) в присутствии маркера молекулярной массы S-550 (“Тордиз”, РФ). Хроматограммы расшифровывали в программе GeneMapper® Software Version 4.0 (Applied Biosystems, USA).

На этапе отработки мультиплекса мы рассматривали несколько вариантов температуры отжига праймеров, а именно 59°C, 60°C, 61°C, 62°C. При прочих равных условиях реакции выход ПЦР продукта при 59°C был наилучшим. Регулирование скорости нагрева проб от 59 до 72°C не более 0,3°C/сек заимствовано нами из протокола для генотипирования крупного рогатого скота (COrDIS Cattle, 2024). Подобный подход хорошо зарекомендовал себя при разработке мультиплексов (Modorov et al., 2020), поэтому был использован нами и в этой работе.

Были рассчитаны следующие показатели, характеризующие генетическую изменчивость выборки: среднее число аллелей на локус (N), эффективное число аллелей на локус (Ne), ожидаемая гетерозиготность (He). Дана оценка вероятности идентичности (PI от англ.

Таблица 2. Число аллелей и размеры фрагментов SSR-локусов *Ribes nigrum* L.
Table 2. Number of alleles and sizes of SSR loci fragments in *R. nigrum* L.

№	Название локуса/ Locus name	Chr.	Позиция, сМ/ Position, cM	Размер фрагментов аллелей, пн Savanna et al., 2009*	Antonius et al., 2012**	Palmieri et al., 2013 ***	Pikunova et al., 2015 **	Mezhnina, Urbanovich, 2017**	Dolzhiikova et al., 2020**
1	g1-K04 (=RJL-6)	1	39,78	267-299 (10) RJL-6 NA	191-309	278-300 (4)	285-298 (4)	270-300 (7)	302-316
2	e1-O20	1	45,62	-	-	192-230 (4)	-	-	-
3	g1-105	1	46,62	-	-	158-185 (4)	-	-	169-200
4	g1-P05, рядом RJL-5	1	53,54	RJL-5 NA	205-304	-	-	-	-
5	g1-M07 (=RJL-7)	1	55,91	201-223 (9) RJL-7 NA	194-233	-	200-222 (7)	200-230 (11)	201-233
6	g1-E03	1*	45*	224-251 (9)	-	-	232-270 (7)	233-262 (7)	-
7	g1-B02	2	54,44	Более 2	-	-	203-207 (3)	-	-
8	g2-J08	2	55,04	142-184 (9)	-	140-178 (3)	158-164 (4)	-	-
9	e4-D03	3	0,5	165-211 (13)	-	164-242 (11)	197-224 (8)	200-226 (10)	-
10	g2-B20	3	59,86	-	-	-	147-185 (5)	-	-
11	e3-M04	3	63,68	293-334 (15)	-	294-340 (9)	-	-	-
12	g1-P08 (=RJL-10)	4	61,35	114-165 (7)	149-298	-	-	-	-
13	e1-O21	4	61,56	286-317 (11)	-	286-306 (4)	288-294 (3)	-	292-298
14	g2-L17	4	62,30	122-165 (10)	-	-	150-171 (6)	-	142-166
15	g2-H21	4	64,01	-	-	-	265-273 (3)	-	244-252
16	e3-B02	5	6,70	Более 2	-	145-176 (7)	188-194 (4)	161-183 (4)	165-170
17	g1-A01	5	40,68	204-243 (12)	-	-	-	209-213 (3)	207-222
18	RJL-11	-	-	113 (1)	205-229	-	-	-	-
19	RJL-2	-	-	WA	197-238	-	-	-	-
20	g1-L12	5	40,75	-	-	-	-	-	201-218
21	g1-D11	6	15,15	236-246	-	-	-	-	-
22	g1-I02	6	16,60	-	-	120-130 (3)	-	-	-
23	e1-O01	6	16,61	136-153 (9)	-	-	138-149 (6)	144-166 (8)	137-155
24	g2-G12	7	69,44	-	-	168-196 (7)	190-215 (7)	167-191 (10)	173-197
25	RJL-3	-	-	N/A	-	-	-	-	-

Примечание. Chr. – номер хромосомы черной смородины, * – данные для пяти видов рода *Ribes*, включая *R. nigrum*. ** – данные для *R. nigrum*. *** – размер фрагментов приведен для нескольких видов рода *Ribes*, а число аллелей только для черной смородины, N/A – продукт амплификации отсутствует. Более 2 – в ПЦР-продукте отмечено более двух бендов. WA – слабая амплификация (weak amplification). Прочерк обозначает отсутствие данных.

Note. Chr. – black currant chromosome number, * – data for five species of the genus *Ribes*, including *R. nigrum*. ** – data for *R. nigrum*. *** – fragment sizes are given for several species of the genus *Ribes*, and the number of alleles is only for black currant, N/A – no amplification product. «Более 2» – more than two bands are noted in the PCR product. WA – weak amplification. A dash indicates no data.

Таблица 3. Характеристика сортообразцов черной смородины для мультиплексного тестирования

Table 3. Characteristics of black currant cultivars for multiplex testing

Название сорта/ Cultivar name	Происхождение/ Origin	Оригинатор/ Originator organization
1. 'Поклон Борисовой'	Сеянец 'Голубки' × 'Лепаан Муста'*	НИИ садоводства Сибири имени М.А. Лисавенко (ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий»), Россия
2. 'Козацька'	('Юность' × 'Зоя') × 'Минай Шмырѐв'	Институт садоводства НААН, Украина
3. 'Баритон'	'Поклон Борисовой' × 'Triton'*	НИИ садоводства Сибири имени М.А. Лисавенко (ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий»), Россия
4. 'Подарок Ильиной'	'Сеянец Голубки' × 'Brödtorp'*	Южно-Уральский НИИ плодовоовощеводства и картофелеводства (ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН), Россия
5. 'Казкова'	'Ожебун'* × 'Санюта' (('Юность' × 'Зоя') × 'Минай Шмырѐв')	Институт садоводства НААН, Украина
6. 'Дабрадзья'	'Ben Lamond' × 'Катюша'	РУП "Институт плодководства", Белоруссия
7. 'Церера'	'Павлинка' × 'Пилот Александр Мамкин'	
8. 'Ben Sarek'	Сортосерия 'Ben'	Шотландский научно-исследовательский институт растениеводства (Scottish Crop Research Institute), Великобритания
9. 'Лучия'	от опыления формы ('Минай Шмырѐв' × 'Brödtorp'*) смесью пыльцы сеянцев из семьи [('Диковинка' × 'Brödtorp'*) × 'Любимица Алтай']	НИИ садоводства Сибири имени М.А. Лисавенко (ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий»), Россия
10. 'Валовая'	'Крупная' × (смесь пыльцы 'Brödtorp'* и 'Хлудовская')	ФГБНУ ФНИЦ Садоводства, Россия
11. 'Краса Львова'	'Загадка' ('Нина' × 'Соперник') × 'Лентяй' ('Минай Шмырѐв' × 'Brödtorp'*)	Институт садоводства НААН, Украина
12. 'Вымпел'	('Ленинградский великан' × 'Минай Шмырѐв') × 'Валовая'	Свердловская селекционная станция садоводства (ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН), Россия
13. 'Глобус'	'Ленинградский Великан' × 'Минай Шмырѐв'	
14. 'Подарок Астахова'	форма 66-28-105 × 'Селеченская 2' (42-7 × 4-1-116)	ФГБНУ «ФНИЦ кормопроизводства и агроэкологии им. В.Р. Вильямса», Россия
15. 'Селеченская'	Сеянец 'Голубки' × 32-77 (сеянец 'Brödtorp'*)	
16. 'Литвиновская'	Форма СН 6-28-105 × 'Селеченская 2' (42-7 × 4-1-116)	
17. 'Мавлади'	'Titania'* × 'Добрыня'	
18. 'Дар Смольяниновой'	4-15-90 × 42-7	
19. 'Память Калининой'	Неизвестно	
20. 'Алтайская поздняя'	(Сеянец 'Голубки' × 'Сложнокистная') × 'Клуссоновская'	НИИ садоводства Сибири имени М.А. Лисавенко (ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий»), Россия
21. 'Спас'	'Ядреная' × 'Плотнокистная'	
22. 'Руслан'	'Сокровище' × сеянец 74-5-1 (от свободного опыления формы сибирского подвида)	
23. 'Ладушка'	('Белорусская сладкая' × 'Sunderbyn II'*) × 'Дачница'	ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур, Россия
24. 'Десертная Огольцовой'	('Белорусская сладкая' × 'Sunderbyn II'*) × 'Дачница'	
25. 'Черноокая'	'Бинар' × 'Орловский вальс'	
26. 'Очарование'	1168 (27-3-63 × 'Sunderbyn II'*) × 'Экзотика'	
27. 'Креолка'	форма ('Белорусская сладкая' × 'Sunderbyn II'*) × 'Зуша'	

Название сорта/ Cultivar name	Происхождение/ Origin	Оригинатор/ Originator organization
28. 'Светлолистная'	'Brödatorp'* × 'Минай Шмырёв'	ФГБНУ ФНЦ им. И.В. Мичурина, ФГБОУ ВО Мичуринский ГАУ, Россия
29. 'Шалунья'	'Детскосельская' × 'Диковинка'	
30. 'Шаман'	'Глобус' × 'Валовая'	Свердловская селекционная станция садоводства (ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН), Россия
31. 'Славянка'	'Fertodi'* × 'Зеленая Дымка'	
32. 'Доброхот'	'Валовая', свободное опыление	
33. 'Пилот'	'Валовая', свободное опыление	

Примечание. * – сорт скандинавского происхождения

Note. * – cultivar of Scandinavian origin

probability of identity), то есть вероятности того, что две особи в перекрестно размножающейся популяции случайно имеют идентичный генотип. Поскольку анализируемые сортообразцы смородины могли иметь общие аллели в связи с общностью их происхождения (см. табл. 3), мы оценили вариант индекса индивидуальной идентичности, а именно PIsibs (Waits et al., 2001). Этот индекс дает оценку, которую можно использовать в качестве консервативной верхней границы вероятности наблюдения идентичных мультилокусных генотипов у двух особей, отобранных из популяции. Расчеты индексов PI и PIsibs были проведены для каждого локуса по отдельности. При оценке эффективности индивидуальной идентификации с использованием всей панели маркеров значения вероятностей идентичности, полученные для каждого локуса, перемножали. Анализ выполнен в программе GenAEx v. 6.51b2 (Peakall et al., 2006).

Результаты и обсуждение

Восемь локусов, а именно g1-K04, g2-J08, e4-D03, g2-L17, e3-B02, g1-A01, e1-O01 и g2-G12 (табл. 4) стало возможным использовать для мультилокусного анализа, а именно в одной пробирке были получены продукты амплификации необходимого качества для всех локусов, подобраны флуоресцентные метки, концентрации праймеров, состав иных реагентов ПЦР-смеси и условия проведения ПЦР. После первичного анализа проб образцы были зашифрованы и проанализированы повторно, расшифрованные генотипы совпали для семи локусов за исключением g2-L17, у которого отмечено выпадение длинных фрагментов в связи с малым количеством их копий и, соответственно, с незначительной высотой соответствующих им пиков.

Для локуса e3-M04 (см. табл. 1 и 2) продуктов амплификации получено не было. Степень амплификации локуса e1-O21 была незначительной, пики аллелей были слиш-

ком низкими. В связи со сложностью интерпретации данных локус e1-O21 был исключен из анализа.

В результате апробации нами были установлены оптимальные соотношения концентраций пар праймеров в мультиплексной реакции, что в итоге позволило получить высокое качество электрофореграмм. Концентрации праймеров приведены в таблице 4; пример электрофореграмм для восьми локусов в случае сортообразца 'Ben Sarek' представлен на рисунке, профили 33 проанализированных сортообразцов приведены в таблице 5. При определении размера мотива для каждого локуса мы ориентировались на минимальные различия длин фрагментов.

Характеристика изменчивости в локусах. В проанализированных локусах черной смородины было обнаружено от трёх до 11 аллелей, ожидаемая гетерозиготность составила от 0,49 до 0,81 (см. табл. 4). Значения индексов вероятности идентичности PI для отдельных локусов составили от 0,06 до 0,35, для всей панели маркеров $1,7 \times 10^{-7}$, таким образом вероятность совпадения генотипов двух особей, случайно отобранных из популяции, составляет 1,7 на 10 миллионов проведенных тестов. Значения индексов PIsibs значительно выше, чем индексов PI. Для проанализированных локусов они составили от 0,36 до 0,57 и $1,8 \times 10^{-3}$ для всей панели маркеров. Таким образом, даже для потомков одних родителей использование предложенной панели SSR-локусов покажет не более 1,8 совпадений генотипов на 1000 проведенных сравнений.

Локус g1-K04 (Chr. 1, LG I) представлен пятью аллелями с размерами фрагментов от 286-300 пн, размером мотива 2 пн. Локус g2-J08 (Chr. 2, LG II) имеет пять аллелей с диапазоном размеров фрагментов 156-166 пн, размер мотива 2 пн. Локус g2-G12 (Chr. 7, LG VII) представлен девятью аллелями с размерами фрагментов от 172 пн до 190 пн, размером мотива 2 пн. Интерпретация данных полученных для этих маркеров затруднений не вызвала.

Таблица 4. Особенности микросателлитных локусов мультиплексной панели маркеров и характеристика изменчивости выбранных локусов

Table 4. Features of microsatellite loci of a multiplex marker panel and characteristics of variability of selected loci

Локус/ Locus	Chr.	LG	Мотив, пн/ motif, bp	Флуорофор/ Fluorophore	N	Ne	He	PI	PIsibs	Диапазон длин фрагментов, пн/ Fragment length range	Концентрация праймеров, мкМ/ Primer concentration, μМ
g1-K04	1	I	2	ROX	5	2,1	0,52	0,27	0,56	286-300	1,75
g2-J08	2	II	2	FAM	5	2,5	0,60	0,23	0,51	156-166	0,12
e4-D03	3	IIIa	2	ROX	11	5,0	0,80	0,06	0,37	202-250 (+205)	0,58
g2-L17	4	IV	2	TAMRA	9	4,4	0,77	0,09	0,39	147-171	0,70
e3-B02	5	Va	3	R6G	3	2,1	0,52	0,32	0,57	167-173	0,09
g1-A01	5	Vb	2	R6G	3	2,0	0,49	0,35	0,59	208-212	0,12
e1-O01	6	VIa	2	ROX	8	5,2	0,81	0,06	0,36	143-161	0,70
G2-G12	7	VII	2	FAM	9	5,2	0,81	0,07	0,36	172-190	0,18

Примечание. Chr. – номер хромосомы смородины черной, LG – группы сцепления, N – число аллелей, Ne – эффективное число аллелей на локус, He – ожидаемая гетерозиготность, PI – индекс вероятности идентичности особей, PIsibs – индекс вероятности идентичности для сибсов.

Note. Chr. – black currant chromosome number, LG – linkage groups, N – number of alleles, Ne – effective number of alleles per locus, He – expected heterozygosity, PI – probability of identity index for individuals, PIsibs – probability of identity between sibs

Локус e4-D03 (Chr. 3, LG IIIa) представлен 11 аллелями с размерами фрагментов 202-250 пн., 10 из этих аллелей имеют четный размер, мотив составляет 2 пн, у трех сортообразцов отмечен один аллель размером 205 пн, нечетный размер. Несмотря на это, интерпретация данных не вызвала трудностей.

Локус g2-L17 (Chr. 4, LG IV) представлен девятью аллелями с размерами фрагментов 147-171 пн, размер мотива 2 пн. Особенностью локуса является различие высот пиков коротких и длинных фрагментов, в результате которого при повторном анализе имеет место «отсев» длинных аллелей и возникают трудности с расшифровкой гетерозигот по аллелям, характеризующимся длинными фрагментами, в случае различия аллелей в один мотив.

Локус e3-B02 (Chr. 5, LG Va) представлен тремя аллелями с размерами фрагментов 167-173 пн, размер мотива 3 пн. Может иметь небольшой неспецифичный пик размером 172 пн. Известны сообщения о том, что в данном локусе может быть амплифицировано более двух аллелей у одного индивида (Savanna et al., 2009). Локус g1-A01 (Chr. 5, LG Vb) представлен тремя аллелями с размерами фрагментов 208-212 пн, размер мотива 2 пн. Интер-

претация данных, полученных для локуса, не вызвала затруднений. К особенностям можно отнести то, что пики аллелей данного локуса дублируются на синем канале (рисунок, отмечено стрелкой). В предложенном мультиплексе данные неспецифичные пики не мешают расшифровке, так как не совпадают с диапазоном какого-либо локуса, меченного синим красителем.

Локус e1-O01 (Chr. 6, LG VIa) представлен восемью аллелями с размерами фрагментов 143-161 пн, размером мотива 2 пн. У нескольких сортообразцов отмечен невысокий неспецифичный пик, совпадающий по длине с аллелем 143 пн. Несмотря на это интерпретация данных для локуса затруднений не вызвала.

Таким образом, большинство локусов могут быть просто и однозначно идентифицированы. Локус g2-L17 вызывает сложности при расшифровке и может быть охарактеризован как кандидат для исключения из мультиплекса. Данный маркер относится к группе сцепления LG IV, которая включает семь локусов (см. табл. 1). В связи с этим есть основание считать, что при совершенствовании методики маркер g2-L17 лучше исключить из дальнейшего анализа.

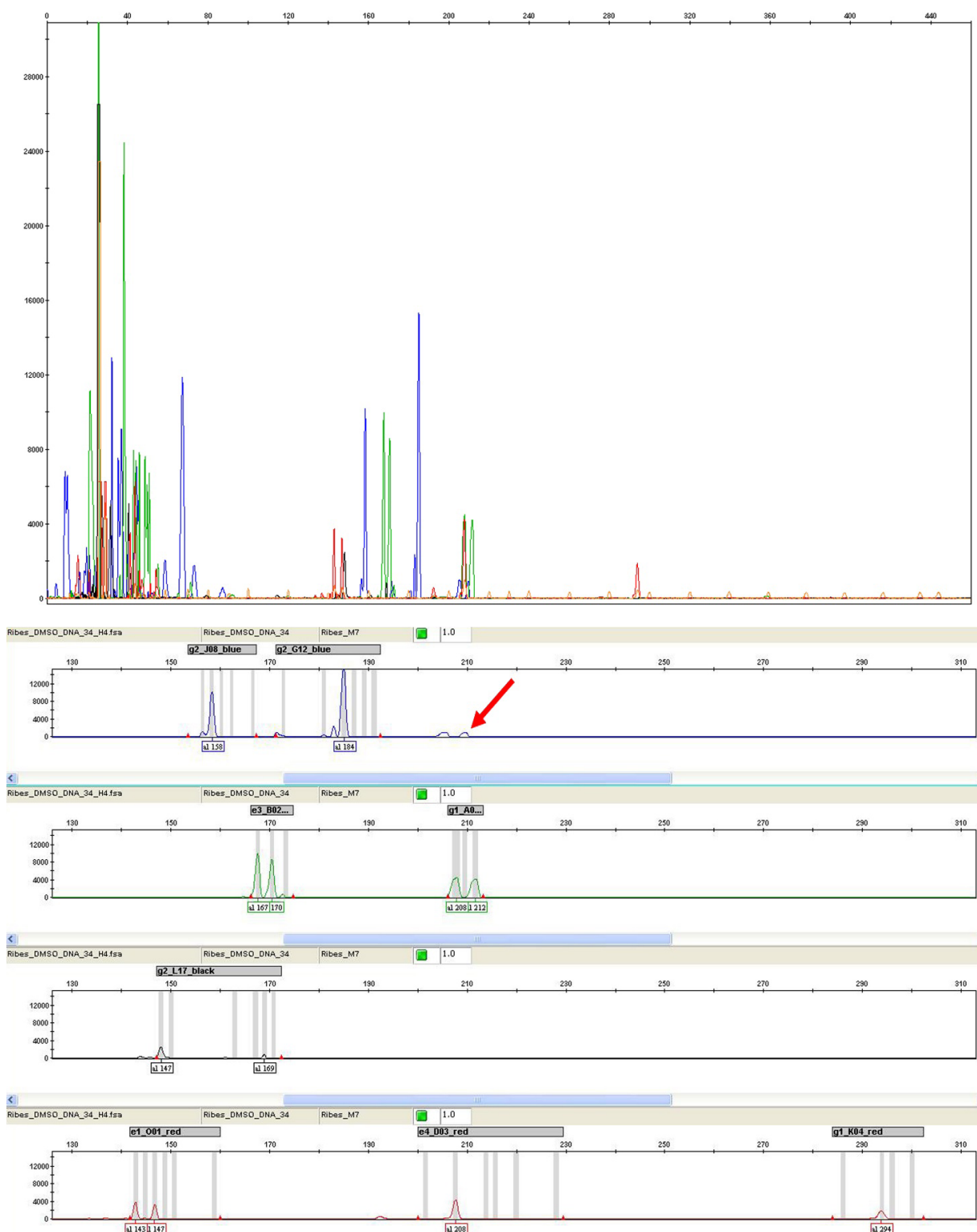


Рисунок. Результат электрофоретического разделения ПЦР-продукта мультиплексной реакции в случае сорта 'Ben Sarek'.

Красной стрелкой показаны пики, дублирующие локус g1-A01

Figure. The result of electrophoretic separation of the PCR product after the multiplex reaction in the case of the cultivar 'Ben Sarek'.

The red arrow points to the peaks that duplicate the g1-A01 locus

Таблица 5. Генетические профили сортов черной смородины

Table 5. Genetic profiles of black currant cultivars

Сортообразец/ Cultivar	Локусы/ Loci							
	g1-K04	g2-J08	e4-D03	g2-L17	e3-B02	g1-A01	e1-O01	g2-G12
‘Поклон Борисовой’	294/296	158/160	208/220	149/149	167/170	208/208	143/145	184/186
‘Козацька’	294/294	158/166	202/220	167/167	167/170	208/212	151/159	190/190
‘Баритон’	286/294	156/158	208/216	163/171	167/173	212/212	147/159	180/190
‘Подарок Ильиной’	294/296	156/158	202/214	149/149	167/170	208/210	149/159	186/190
‘Казкова’	294/300	156/158	208/214	147/147	167/170	208/212	151/151	172/180
‘Дабрадзся’	294/294	158/160	220/220	167/167	167/170	208/212	147/151	180/188
‘Церера’	294/294	158/162	208/228	167/167	167/170	208/208	149/151	180/180
‘Ben Sarek’	294/294	158/158	208/208	147/169	167/170	208/212	143/147	184/184
‘Лучия’	294/300	158/158	208/214	161/171	167/167	208/210	147/149	184/186
‘Валовая’	294/296	158/160	208/214	161/161	167/170	208/208	149/159	184/186
‘Краса Львова’	294/296	158/158	202/214	161/171	170/170	212/212	147/151	172/186
‘Вымпел’	294/294	156/160	208/228	161/161	170/170	208/212	151/159	184/190
‘Глобус’	294/294	156/158	202/202	161/171	167/170	208/212	147/151	180/190
‘Подарок Астахова’	294/294	160/160	208/228	167/171	167/167	208/208	143/159	180/180
‘Селеченская’	294/300	160/160	202/208	149/171	167/167	208/208	143/151	180/190
‘Литвиновская’	294/300	160/160	208/228	167/171	167/167	208/208	143/159	186/190
‘Мавлади’	294/294	158/158	214/214	161/167	167/167	208/212	143/153	172/190
‘Дар Смоляниновой’	294/300	160/160	204/228	149/167	167/167	208/208	151/159	186/186
‘Память Калининой’	294/296	158/160	208/214	161/171	170/173	208/212	143/147	180/184
‘Алтайская поздняя’	288/300	156/158	210/214	161/161	167/167	212/212	147/159	172/180
‘Спас’	286/294	158/158	220/246	149/171	167/167	212/212	149/159	172/180
‘Руслан’	286/294	156/160	216/246	159/171	167/167	208/212	159/161	178/190
‘Ладушка’	294/300	160/160	205/208	167/171	167/173	208/208	147/149	186/190
‘Десертная Огольцовой’	294/294	156/160	205/214	161/167	167/167	208/208	147/149	180/190
‘Черноокая’	294/296	158/158	214/228	151/161	167/170	212/212	147/159	184/190
‘Очарование’	294/294	158/158	205/214	161/171	167/167	208/208	147/149	172/188
‘Креолка’	294/294	158/158	208/208	167/171	167/170	208/212	147/149	180/186
‘Светлолистная’	294/296	158/158	208/228	149/161	170/170	208/212	149/151	186/190
‘Шалунья’	286/294	158/158	208/250	161/171	167/170	212/212	143/151	180/190
‘Шаман’	294/296	158/160	208/208	161/161	167/167	208/208	159/159	184/186
‘Славянка’	294/294	158/158	214/214	161/171	170/170	208/208	149/151	188/190
‘Доброхот’	294/296	158/160	208/208	161/161	170/170	208/208	149/159	184/186
‘Пилот’	294/296	158/160	214/214	161/161	170/170	208/208	149/159	184/186

Локусы e4-D03, e1-O01 и G2-G12 имеют высокие показатели индексов, характеризующих генетическое разнообразие ($N_e > 4,9$) и низкие значения показателя вероятности идентичности ($PI < 0,10$) (см. табл. 4). Таким образом, именно они вносят наибольший вклад в способность мультиплекса идентифицировать сортообразцы. Наиболее низкие показатели генетического разнообразия показывают локусы g1-K04, e3-B02 и g1-A01 ($N_e < 2,2$, $PI > 0,26$). Маркер e3-B02 является единственным в LG Va, поэтому нет возможности заменить его на более информативный аналог. Оставшиеся низко информативные локусы имеют потенциальные замены в своих группах сцепления (см. табл. 1).

Индексы вероятностей идентичности для всей панели маркеров составляют $PI = 1,7 \times 10^{-7}$ и $PI_{sibs} = 1,8 \times 10^{-3}$.

Это означает, что при выявленном уровне генетической изменчивости вероятность случайного совпадения двух генотипов в перекрестно размножающейся популяции составляет 1,7 случаев на 10 миллионов сравнений, а в выборке сибсов 1,8 случаев на 1000 проведенных сравнений.

Заключение

Проведенное исследование показало, что локусы *Ribes nigrum*, расположенные в различных группах сцепления, а именно g1-K04, g2-J08, e4-D03, g2-L17, e3-B02, g1-A01, e1-O01 и g2-G12, могут быть использованы для мультиплексной реакции, которая позволяет проводить оценку изменчивости восьми локусов черной смородины

после амплификации «в одной пробирке» при температуре 59°C, относительно высокой для отжига праймеров. Наиболее трудным для интерпретации данных оказался локус g2-L17, воспроизводимость результатов для которого в повторных тестах не была абсолютной. Анализ 33-х сортообразцов черной смородины, отечественных и европейских, в том числе скандинавских сортов, по остальным семи локусам позволил дать однозначную интерпретацию результатов генотипирования. В каждом локусе выявлено от трех до одиннадцати аллелей. Таким образом, предложенный подход можно считать эффективным решением для проведения генетической идентификации культурных форм *Ribes nigrum*.

References/Литература

- Antonius K., Karhu S., Kaldmae H., Lacis G., Rugenius R., Baniulis D., Sasnauskas A., Schulte E., Kuras A., Korbin M., Gunnarsson A., Werlemark G., Ryliskis D., Todam-Andersen T., Kokk L., Jarve K. Development of the Northern European *Ribes* core collection based on a microsatellite (SSR) marker diversity analysis. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*. 2012;10(1):70-73. DOI: 10.1017/S147926211000980
- Bassil N., Bidani A., Nyberg A., Hummer K., Rowland L.J. Microsatellite markers confirm identity of blueberry (*Vaccinium* spp.) plants in the USDA-ARS National Clonal Germplasm Repository collection. *Genetic resources and crop evolution*. 2020;67:393-409. DOI: 10.1007/s10722-019-00873-8
- Brennan R., Jorgensen L., Hackett C., Woodhead M., Gordon S., Russell J. The development of a genetic linkage map of black currant (*Ribes nigrum* L.) and the identification of regions associated with key fruit quality and agronomic traits. *Euphytica*. 2008;161:19-34. DOI: 10.1007/s10681-007-9412-8
- Brennan R., Jorgensen L., Woodhead M., Russell J. Development and characterization of SSR markers in *Ribes* species. *Molecular Ecology Notes*. 2002;2:327-330. DOI: 10.1046/j.1471-8286.2002.00233.x
- Cavanna M., Marinoni D.T., Beccaro G.L., Bounou G. Microsatellite-based evaluation of *Ribes* spp. germplasm. *Genome*. 2009;52(10):839-848. DOI: 10.1139/G09-057
- Cmejlova J., Rejlova M., Paprstein F., Cmejla R. A new one-tube reaction kit for the SSR genotyping of apple (*Malus × domestica* Borkh.). *Plant science*. 2021;303:110768. DOI: 10.1016/j.plantsci.2020.110768
- COrDIS Cattle. Reagent kit for multiplex analysis of 15 microsatellite markers of cattle. LLC "GORDIZ". Moscow, Russia. Available from <https://gordiz.ru/en/products/animal-kits/cordis-cattle/> [accessed Sept. 6, 2024].
- Devey M.E., Bell J.C., Smith D.N., Neale D.B., Moran G.F. A genetic linkage map for *Pinus radiata* based on RFLP, RAPD and microsatellite markers. *Theoretical and applied genetics*. 1996;92:673-679. DOI: 10.1007/BF00226088
- Dolzhiikova M.A., Pikunova A.V., Tolpekina A.A., Knyazev S.D., Bakhotskaya A.Yu. Identification of blackcurrant varieties (*Ribes nigrum* L.) based on microsatellite locus polymorphism. *Vestnik of the Russian agricultural science*. 2020;3:26-29. [in Russian] (Должиикова М.А., Пикунуова А.В., Толпекина А.А., Князев С.Д., Бахотская А.Ю. Идентификация сортов смородины черной (*Ribes nigrum* L.) на основании полиморфизма микросателлитных локусов. *Вестник Российской сельскохозяйственной науки*. 2020;3:26-29). DOI: 10.30850/vrsn/2020/3/26-29
- Gabyshva N.S. Evaluation of the initial breeding material of black currant. *Siberian Herald of Agricultural Science*. 2019;49(5):21-27. [in Russian] (Габышева Н.С. Оценка исходного селекционного материала смородины черной. *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2019;49(5):21-27). DOI: 10.26898/0370-8799-2019-5-3
- Galinskaya T.V., Schepetov D.M., Lysenkov S.N. Prejudices against microsatellite studies and how to resist them. *Russian Journal of Genetics*. 2019;55(6):657-671. DOI: 10.1134/S1022795419060048
- Hedrick P.W. Genetics of populations. London; 2010.
- ICAR guidelines. Section 4 – DNA technology. Version: February 2022. [Available from: <https://www.icar.org/Guidelines/04-DNA-Technology.pdf>] [accessed Sept. 13, 2024].
- Knyazev S.D., Bakhotskaya A.Yu. Genetic diversity of black currant varieties breeding of the Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding. *Pomiculture and Small Fruits Culture in Russia*. 2018;54:47-51. [in Russian] (Князев С.Д., Бахотская А.Ю. Генетическое разнообразие смородины черной сортов селекции ВНИИСПК. *Плодоводство и ягодоводство России*. 2018;54:47-51). DOI: 10.31676/2073-4948-2018-54-47-51
- Knyazev S.D., Levgerova N.S., Makarkina M.A., Pikunova A.V., Salina E.S., Chekalin E.I., Yanchuk T.V., Shavyrkinina M.A. Black currant breeding: methods, achievements, trends (Seleksiya chernoy smorodiny: metody, dostizheniya, napravleniya). Orel: VNIISPК; 2016. [in Russian] (Князев С.Д., Левгерова Н.С., Макаркина М.А., Пикунуова А.В., Салина Е.С., Чекалин Е.И., Янчук Т.В., Шавыркина М.А. Селекция черной смородины: методы, достижения, направления. Оре́л: ВНИИСПК; 2016).
- Knyazev S.D., Ogol'cova T.P. Black currant breeding at the present stage (Seleksiya chernoy smorodiny na sovremennom etape). Orel: Orel State Agrarian University named after N.V. Parakhin; 2004. [in Russian] (Князев С.Д., Огольцова Т.П. Селекция черной смородины на современном этапе. Оре́л: Орловский государственный аграрный университет имени Н.В. Парахина; 2004).
- Modorov M., Monakhov V., Mikryukov V., Erokhin N., Tkachenko I., Polezhaeva M., Ranyuk M. Microsatellite multiplex assay for sable (*Martes zibellina*) and pine marten (*Martes martes*). *Mammal research*. 2020;65(4):855-862. DOI: 10.1007/s13364-020-00529-4
- Lu G., Wang W., Zhang S., Yang G., Zhang K., Que Y., Deng L. The first complete mitochondrial genome of Grossulariaceae: Molecular features, structure recombination, and genetic evolution. *BMC Genomics*. 2024;25:744. DOI: 10.1186/s12864-024-10654-y
- Mezhnina O.A., Urbanovich O.Yo. Analysis of microsatellite loci variability *Ribes* L. representatives grown in Belarus. *Proceedings of the National academy of sciences of Belarus. Biological series*. 2017;3:45-54. [in Russian] (Межнина О.А., Урбанович О.Ю. Анализ вариативности микросателлитных локусов у представителей рода смородины (*Ribes* L.), выращиваемых в Беларуси. *Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук*. 2017;3:45-54).
- Montanari C., Deng C., Koot E., Bassil N.V., Zurn J.D., Morrison-Whittle P., Worthington M.L., Aryal R., Ashrafi H., Pradelles J., Wellenreuther M., Chagné D. A multiplexed plant-animal SNP array for selective breeding and species conservation applications. *G3: Genes|genomes|genetics*. 2023;13(10):2160-1836. DOI: 10.1093/g3journal/jkad170
- Palmieri L., Grando M.S., Sordo M., Grisenti M., Martens S., Giongo L. Establishment of molecular markers for germplasm management in a worldwide provenance *Ribes* spp. collection. *Plant Omics*. 2013;6(3):165-174.
- Peakall R., Smouse P.E. GenA1Ex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular ecology notes*. 2006;6:288-295. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x
- Petrova S.N., Kuznetsova A.A. Composition of fruits and leaves of black currant *Ribes nigrum* (review). *Chemistry of Plant Raw Material = Khimija rastitel'nogo syr'ya*. 2014;4:43-50. [in Russian] (Петрова С.Н., Кузнецова А.А. Состав плодов и листьев смородины черной *Ribes nigrum* (обзор). *Химия растительного сырья*. 2014;4:43-50). DOI: 10.14258/jcprm.201404221
- Pikunova A.V., Knyazev S.D., Bakhotskaya A.Yu., Kochumova A.A. Microsatellite loci polymorphism in Russian black currant (*Ribes nigrum* L.) varieties from collection of All-Russian Research Institute of Breeding Fruit Crops. *Agricultural biology*. 2015;50(1):46-54. [in Russian] (Пикунуова А.В., Князев С.Д., Бахотская А.Ю., Кочумова А.А. Полиморфизм микросателлитных локусов у сортов черной смородины (*Ribes nigrum* L.) из коллекции ВНИИСПК.

- Сельскохозяйственная биология.* 2015;50(1):46-54. DOI: 10.15389/agrobiol.2015.1.46rus
- Rebrikov D.V., Samatov G.A., Trofimov D.Yu. Real-time PCR (PTsR v real'nom vremeni). Rebrikov D.V. (ed.). Moscow: Laboratoriya znaniy; 2023. [in Russian] (Ребриков Д.В., Саматов Г.А., Трофимов Д.Ю. ПЦР в реальном времени / под ред. Д.В. Ребрикова. Москва: Лаборатория знаний; 2023).
- Russell J., Hackett Ch., Hedley P., Liu H., Milne L., Bayer M., Marshall D., Jorgensen L., Gordon S., Brennan R. The use of genotyping by sequencing in black currant (*Ribes nigrum*): developing high-resolution linkage maps in species without reference genome sequences. *Molecular breeding: new strategies in plant improvement.* 2014;33:835-849. DOI: 10.1007/s11032-013-9996-8
- Sazonov F.F. Breeding of black currant in the conditions of the southwestern part of the Non-Chernozem zone of Russia (Selektsiya smorodiny chornoy v usloviyakh yugo-zapadnoy chasti Nechernozemnoy zony Rossii). Moscow: All-Russian Breeding and Technological Institute of Horticulture and Nursery of the Russian Academy of Agricultural Sciences; 2018. [in Russian] (Сазонов Ф.Ф. Селекция смородины черной в условиях юго-западной части Нечерноземной зоны России. Москва: Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства Российской академии сельскохозяйственных наук; 2018).
- Sekridova A.V., Shilov I.A., Kislin E.N., Malyuchenko O.P., Kharchenko P.N. The technology of genetic identification of varieties and wild-growing forms of grapes based on multilocus microsatellite analysis. *Applied Biochemistry and Microbiology.* 2022;58(9):1050-1059. DOI: 10.1134/S0003683822090083
- Sun X., Zhan Y., Li S., Liu Y., Fu Q., Quan X., Xiong J., Gang H., Zhang L., Qi H., Wang A., Huo J., Qin D., Zhu C. Complete chloroplast genome assembly and phylogenetic analysis of black currant (*Ribes nigrum*), red and white currant (*Ribes rubrum*), and gooseberry (*Ribes uva-crispa*) provide new insights into the phylogeny of *Grossulariaceae*. *PeerJ.* 2023;11:e16272. DOI: 10.7717/peerj.16272
- Testolin R., Messina R., Cipriani G., De Mori G. SSR-based DNA fingerprinting of fruit crops. *Crop Science.* 2022;63:390-459. DOI: 10.1002/csc2.20896
- Waits L.P., Luikart G., Taberlet P. Estimating the probability of identity among genotypes in natural populations: cautions and guidelines. *Molecular Ecology.* 2001;10(1):249-256. DOI: 10.1046/j.1365-294X.2001.01185.x
- Zurn J.D., Nyberg A., Montanari S., Postman J., Neale D., Bassil N. A new SSR fingerprinting set and its comparison to existing SSR- and SNP-based genotyping platforms to manage *Pyrus* germplasm resources. *Tree Genetics & Genomes.* 2020;16:72. DOI: 10.1007/s11295-020-01467-7

Информация об авторах

- Макар Васильевич Модоров**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория молекулярно-генетической экспертизы, Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук (ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН), 620142 Россия, Екатеринбург, ул. Белинского, 112а, mmodorov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6182-233X>
- Ольга Анатольевна Киселева**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Свердловская селекционная станция садоводства, Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук (ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН), 620142 Россия, Екатеринбург, ул. Белинского, 112а, kiselevaolga@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8619-6416>
- Мария Алексеевна Полежаева**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Свердловская селекционная станция садоводства, Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук (ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН), 620142 Россия, Екатеринбург, ул. Белинского, 112а, polezhaevam@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9729-2617>
- Елена Михайловна Чеботок**, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, Свердловская селекционная станция садоводства, Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук (ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН), 620142 Россия, Екатеринбург, ул. Белинского, 112а, sadovodnauka@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5942-6178>

Information about the authors

- Makar V. Modorov**, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Genetic Expertise, Ural Federal Agrarian Scientific Research Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 112a, Belinsky Street, Ekaterinburg, 620142 Russia, mmodorov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6182-233X>
- Olga A. Kiseleva**, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Sverdlovsk Selection Station of Horticulture, Ural Federal Agrarian Scientific Research Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 112a, Belinsky Street, Ekaterinburg, 620142 Russia, kiselevaolga@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8619-6416>
- Maria A. Polezhaeva**, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Sverdlovsk Selection Station of Horticulture, Ural Federal Agrarian Scientific Research Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 112a, Belinsky Street, Ekaterinburg, 620142 Russia, polezhaevam@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9729-2617>
- Elena M. Chebotok**, Cand. Sci. (Agriculture), Senior Researcher, Sverdlovsk Selection Station of Horticulture, Ural Federal Agrarian Scientific Research Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 112a, Belinsky Street, Ekaterinburg, 620142 Russia, sadovodnauka@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5942-6178>

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 14.09.2024; одобрена после рецензирования 14.11.2024; принята к публикации 05.12.2024.

The article was submitted on 14.09.2024; approved after reviewing on 14.11.2024; accepted for publication on 05.12.2024.

Научная статья
УДК 58.036:58.085
DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-02



Микроклональное размножение *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (Liliaceae) с использованием культуры изолированных зародышей

Е. В. Андропова, О. Г. Бутузова, А. А. Ковалева, Е. Ю. Семенова

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Елена Валентиновна Андропова, elena_andronova@binran.ru

В статье изложены результаты опытов по введению в культуру *in vitro* *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (F. Schmidt) H. Nara с использованием изолированных зародышей. В природе семена этого вида прорастают в течение двух лет, что связано со сложным морфофизиологическим типом покоя, при котором прорастанию семян предшествует период доразвития зародыша внутри семени. Для того, чтобы ускорить получение проростков, использовали метод культивирования изолированных зародышей *in vitro*. Зародыши выделяли как из зрелых семян, без стратификации, так и из семян, прошедших стратификацию при разных температурных режимах. Показано, что использование зародышей, выделенных из семян без стратификации для введения в культуру *in vitro*, не является эффективным. В большинстве случаев рост зародышей или не происходил совсем, или сопровождался различными аномалиями; в конечном итоге проростки подвергались некрозу. Зародыши, прошедшие доразвитие после стратификации, были способны формировать нормальные проростки, которые в дальнейшем использовали для микроклонального размножения. Показано, что наиболее эффективно использовать в качестве эксплантов поперечные сегменты луковицы, располагающиеся выше донца. Закладка дополнительных луковичеподобных структур наблюдалось в основании срезов мясистых оснований листьев. Побеги, после переноса на среду Мурасиге и Скуга с половинным содержанием макро и микросолей, формировали адвентивные корни и нормально развитые листья. Дополнительные побеги были успешно использованы для последующего цикла микроклонального размножения.

Ключевые слова: сложный морфофизиологический тип покоя семян, культура изолированных зародышей, микроклональное размножение, стратификация семян

Благодарности: Работа проведена в рамках государственного задания Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН № 124013100862-0 «Поливариантность морфогенетических программ развития репродуктивных структур растений, регуляция морфопрцессов *in vivo* и *in vitro*»

Для цитирования: Андропова Е.В., Бутузова О.Г., Ковалева А.А., Семенова Е.Ю. Микроклональное размножение *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (Liliaceae) с использованием культуры изолированных зародышей. *Биотехнология и селекция растений*. 2024;7(4):82-91. DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-02

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

© Андропова Е.В., Бутузова О.Г., Ковалева А.А., Семенова Е.Ю., 2024

Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-o2

Microclonal propagation of *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (Liliaceae) using the culture of isolated embryos

Elena V. Andronova, Oksana G. Butuzova, Alina A. Kovaleva, Ekaterina Yu. Semenova

Komarov Botanical Institute, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

Corresponding author: Elena V. Andronova, elena_andronova@binran.ru

The article presents the results of experiments on the introduction of *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (F. Schmidt) H. Hara into the *in vitro* culture using isolated embryos. In nature, the seeds of this species germinate within two years, which is associated with a complex morphophysiological type of dormancy, in which seed germination is preceded by a period of further development of the embryo inside the seed. In order to speed up the production of plantlets, a method of culturing isolated embryos *in vitro* was used. Embryos were isolated from both mature seeds without stratification and from seeds that had undergone stratification at different temperature conditions. The use of embryos isolated from the non-stratified seeds for the introduction into *in vitro* culture was shown to be ineffective. In most cases, embryo growth either did not occur at all, or was accompanied by various anomalies; ultimately, the plantlets became necrotic. Embryos that underwent further development after stratification were capable of forming normal plantlets, which were subsequently used for microclonal propagation. The use of transverse segments of the bulb above its stem was found to be most efficient. The development of additional bulb-like structures was observed at the base of sections of the fleshy bases of leaves. After the transfer to the Murashige and Skoog medium with half the content of macro and micro salts, the plantlets formed adventitious roots and normally developed leaves. Additional shoots were successfully used for subsequent micropropagation cycles.

Keywords: complex morphophysiological type of seed dormancy, culture of isolated embryos, microclonal propagation, stratification of seeds

Acknowledgements: The work was carried out within the framework of the State Assignment to the Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences No. 124013100862-0 “Polyvariance of morphogenetic programs for the development of reproductive structures of plants, and regulation of morphoprocesses *in vivo* and *in vitro*”

For citation: Andronova E.V., Butuzova O.G., Kovaleva A.A., Semenova E.Yu. Microclonal propagation of *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (Liliaceae) using the culture of isolated embryos. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2024;7(4):82-91. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-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.

© Andronova E.V., Butuzova O.G., Kovaleva A.A., Semenova E.Yu., 2024

Введение

Дикорастущие виды растений относятся к биологическим ресурсам и представляют собой важную часть сырьевого потенциала России. Многие из них являются редкими исчезающими растениями, и это ограничивает возможности их использования в качестве новых нетрадиционных растений с хозяйственно-ценными признаками. Одной из задач для сохранения и расширения биоресурсной базы нашей страны является развитие технологий создания биокультур ресурсных видов и искусственных экосистем для перехода от изъятия биологических объектов из природных популяций к их культивированию (Biological resources of the Russian Federation..., 2024). Эти технологии дополняют существующие традиционные методы сохранения биоразнообразия *ex situ* современными биотехнологическими инструментами, обеспечивающими возможность устойчивого управления генетическими ресурсами (Benson, 2002).

Cardiocrinum cordatum var. *glehnii* (F. Schmidt) Н. Нара является эндемиком Сахалинской области, относится к редким растениям, занесен в Красную книгу РФ (On approval of the List of flora species..., 2023), является растением декоративным, пищевым и лекарственным (Vorontsova et al., 2023). В качестве сырья могут быть использованы луковицы и листья для получения комплексов полезных вторичных метаболитов (Hori et al., 2021; Momotomi et al., 2022). Размножение семенное и вегетативное с помощью луковиц деток. В природных условиях прорастание семян происходит через два года после их опадения.

Введение *C. cordatum* var. *glehnii* в культуру ограничивается биологическими особенностями вида. Это монокарпическое растение, семена характеризуются затрудненным прорастанием, обусловленным наличием покоя, который по классификации Николаевой (Nikolaeva, 1983), относится к сложному морфофизиологическому типу (МФП). Этот тип покоя обусловлен недоразвитием зародыша в зрелом семени и наличием физиологического механизма торможения прорастания (ФМТ). Более того, при сложном МФП имеет место не только ФМТ прорастания семян, но и ФМТ доразвития зародыша (Nikolaeva, 1983). В работах, посвященных покою семян у *C. cordatum* var. *glehnii*, обнаружено, что действуют не два, а три механизма, тормозящие прорастание: ФМТ доразвития зародыша и два механизма торможения собственно прорастания (роста зародышевого корня через покровы семени), один из которых действует в зародыше, а другой – в окружающих его структурах семени (Andronova et al., 2019; Butuzova et al., 2019).

Для видов, семенное возобновление которых ослаблено или затруднено, использование культуры *in vitro* более эффективно по сравнению с традиционными методами размножения (Vetchinkina, 2010). В последнее время активизировались исследования по разработке био-

технологических приёмов сохранения редких видов растений и имеются протоколы по их эффективно-му введению в культуру *in vitro*. Однако по отношению к *C. cordatum* var. *glehnii* такие работы не проводились. Сведения о биотехнологических методах размножения этого вида в литературе отсутствуют. В ряде работ высказана точка зрения, что недоразвитие зародыша в покоящихся семенах можно преодолеть при культивировании изолированных зародышей *in vitro* (Vetchinkina, 2010; Zheleznicenko et al., 2016; Prasanth et al., 2023).

В исследовании представлены результаты по введению *C. cordatum* var. *glehnii* в культуру *in vitro* с использованием изолированных зародышей. Настоящая статья продолжает серию публикаций (Andronova et al., 2019; Butuzova et al., 2019, Butuzova et al., 2023) по исследованию особенностей прорастания семян *C. cordatum* var. *glehnii* и влияния стратификации семян на способность изолированных зародышей развиваться в культуре *in vitro*.

Материалы и методы

Семена *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (кардиокринум Глена, лилия Глена) были собраны в октябре 2021 года в местах естественного произрастания вида (остров Сахалин).

Перед постановкой всех опытов семена замачивали в воде в чашках Петри на фильтровальной бумаге для набухания, выдерживали в течение двух суток при температуре 20°C, другие обработки к ним не применялись. Из семян выделяли зародыши и помещали их на питательную среду.

В опытах использовали нестратифицированные свежесобранные выполненные и жизнеспособные семена через один месяц после сбора, а также через шесть месяцев и один год сухого хранения в холодильнике при 2°C. Результаты всех экспериментов суммированы и представлены как вариант 0 (то есть нестратифицированные семена).

Использовали также зародыши, извлеченные из семян, прошедших разные режимы стратификации:

Вариант 1: (20°C – 3 мес.);

Вариант 2: (20°C – 2 мес.) – (9-10°C – 1 мес.);

Вариант 3: (9-10°C – 3 мес.);

Вариант 4: (20°C – 2,5 мес.) – (9-10°C – 2,5 мес.);

Вариант 5: (0-2°C – 1 мес.) – (9-10°C – 1 мес.) – (0-2°C – 1 мес.) – (20°C – 1 мес.) – (0-2°C – 1 мес.) – (9-10°C – 1 мес.) – (0-2°C – 1 мес.) – (20°C – 1 мес.);

Вариант 6: (0-2°C – 3 мес.) – (10°C – 3 мес.) – (20°C – 3 мес.).

Зародыши изолировали из семян, стерилизованных в «Белизне» (100 мл отбеливателя + 150 мл стерильной дистиллированной воды). Культивирование изолированных зародышей и проростков проводили на питательной среде Мурасиге и Скуга (МС) (Murashige, Skoog, 1962) с половинной концентрацией макро- и микроэлементов

с добавлением витаминов В₁, В₂ и РР (в концентрации 1 мг/л каждого), 2% сахарозы и 0,7% агара.

Выращенные растения использовали для микроклонального размножения. В качестве эксплантов выступали части семядоли, сегменты поперечных срезов основания луковицы (донце) и выше донца. Экспланты высаживали на среду МС с добавлением витаминов В₁, В₂ и РР (в концентрации 1 мг/л каждого), 2 мг/л 6-БАП, 1 мг/л НУК и дополненной сахарозой (3%) и агаром (0,7%).

Полученные адвентивные побеги укореняли на среде МС с половинной концентрацией макро и микроэлементов без гормонов, 2% сахарозой и 0,7% агаром.

Съемку и документацию изображений проводили с использованием стереоскопического микроскопа Stemy 2010 (Zeiss, Германия) и программного пакета Image-Pro Insight 8.0 (Media Cybernetics, США), а также цифрового фотоаппарата Nikon (Nikon, Япония). Статистический анализ данных проводили в приложении Microsoft Office

Excel 2016.

Результаты

Культура зародышей, изолированных из семян без стратификации. Зародыши *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* на момент опадения семени с материнского растения являются недоразвитыми (Рис.1 а, б). Их средняя длина составляла $0,68 \pm 0,02$ мм, они занимали 1/6-1/7 длины семени. После посадки на питательную среду никаких изменений в зародышах, изолированных из семян как свежесобранных, так и после разного срока хранения, которые бы свидетельствовали о начале ростовых процессов, не наблюдалось. Лишь единичные зародыши трогались в рост и спустя четыре месяца достигали в длину 1,09 мм и 1,38 мм (Таблица), но через некоторое время они претерпевали некроз.

Таблица. Характеристика зародышей, изолированных из семян без стратификации или при разных ее режимах, в культуре *in vitro*

Table. Characterization of *in vitro* embryos isolated from seeds without stratification or under different stratification conditions

Вариант опыта, состояние семян и режим стратификации/ Experimental variant, seed condition and stratification regime	Длительность стратификации/ Duration of stratification	Число изолированных зародышей/ Number of isolated embryos	Длина изолированных зародышей, мм/ Length of isolated embryos, mm	Длительность культивирования зародышей <i>in vitro</i> / Duration of <i>in vitro</i> embryo cultivation	Характеристика зародышей после культивирования <i>in vitro</i> / Characteristics of embryos after <i>in vitro</i> cultivation		
					Число растущих зародышей/ No. of growing embryos	Длина зародышей (мм)/ Embryo length (mm)	Состояние развития, успешность введения в культуру <i>in vitro</i> / Development status, success of introduction into <i>in vitro</i> culture
0: свежесобранные или после сухого хранения	0	20	$0,68 \pm 0,02$	4 мес.	2	1,09; 1,38	Некроз
1: 20°C – 3мес.	3	10	$0,71 \pm 0,01$	1 мес.	3	1,37; 2,68; 3,61	Некроз
2: (20°C – 2мес.) – (9-10°C – 1 мес.)	3	10	$0,99 \pm 0,03$	1 мес.	10	$5,11 \pm 0,17$	Аномальное развитие, некроз
3. (9-10°C – 3 мес.)	3	10	$0,81 \pm 0,07$	1 мес.	6	от 0,95 до 5,69 мм	Аномальные, гетерогенность по размерам, некроз
4: (20°C – 2,5 мес.) – (9-10°C – 2,5 мес.)	5	10	$4,84 \pm 0,25$	2 дня	10	$7,12 \pm 0,31$	Нормальные, без роста зародышевого корня
5: (0-2°C – 1 мес.) – (9-10°C – 1 мес.) – (0-2°C – 1 мес.) – (20°C – 1 мес.) – (0-2°C – 1 мес.) – (9-10°C – 1 мес.) – (0-2°C – 1 мес.) – (20°C – 1 мес.)	8	10	>4,5	12 дней	10	~50,0	Нормальные
6: (0-2°C – 3 мес.) – (10°C – 3 мес.) – (20°C – 3 мес.)	9	10	>4,5	12 дней	10	~50,0	Нормальные

Культура зародышей, изолированных из семян после стратификации при разных условиях. Скорость роста зародышей, изолированных из стратифицированных семян, различалась в зависимости от варианта температурной обработки семян (см. Таблица). Как видно из таблицы, в вариантах 1-4 использовали только теплую стратификацию при постоянной температуре или с чередованием температурных режимов общей продолжительностью 3 месяца или 5 месяцев. В вариантах 5 и 6 проращивание семян проводили при смене теплой и холодной стратификации, длительность холодного периода составила 4 и 3 месяца, теплого – 4 и 6 месяцев, соответственно.

При культивировании зародышей, изолированных из

семян после стратификации в вариантах 1 и 3 (стратификация три месяца при постоянной температуре 20°C или 9-10°C, соответственно), длина большинства из них не менялась. Отмечен рост лишь у единичных зародышей, их максимальная длина составила 3,61 мм (вариант 1) и 5,69 мм (вариант 3) (см. Таблица). Однако, развитие их сопровождалось аномалиями, и в конечном счете такие зародыши претерпевали некроз.

Спустя месяц культивирования зародышей, извлеченных из семян после стратификации по варианту 2, их средняя длина увеличилась до $5,11 \pm 0,17$ мм. Однако зародыши также имели аномальное строение (Рис. 1g, h) и со временем гибли вследствие некроза.



Рис. 1. Семена, изолированные зародыши и проростки *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii*

a, b – семя после диссеминации и изолированный из него зародыш;
 c, d – семя после доразвития зародыша и изолированный из него зародыш; e – растущие на питательной среде проростки;
 f – проросток нормального строения; g, h – проростки аномального строения.
 Масштабные линейки. a, c – 1,5 мм; b – 0,6 мм; d – 1,2 мм; g – 2,5 мм; h – 2 мм

Fig. 1. Seeds, isolated embryos and plantlets of *C. cordatum* var. *glehnii*

a, b – seed after dissemination and embryo isolated from it; c, d – seed after embryo post-development and embryo isolated from it;
 e – plantlets on the nutrient medium; f – normal plantlet; g, h – abnormal plantlets.
 Scale bars. a, c – 1.5 mm; b – 0.6 mm; d – 1.2 mm; g – 2.5 mm; h – 2 mm

В варианте 4, при котором длительность теплой обработки семян составила 5 месяцев (2,5 мес. при 20°C и 2,5 мес. при 9-10°C), на момент высадки длина зародышей была сопоставима с длиной зародышей, прошедших полное доразвитие в семенах при стратификации (Рис. 1с, d). После посадки на питательную среду зародыши быстро трогались в рост; из них формировались проростки нормального строения, однако, не наблюдался рост зародышевого корня. После формирования луковицы образовывались адвентивные корни, а зачаток зародышевого корня отмирал.

В вариантах стратификации 5 и 6 с чередованием периодов холода и тепла рост зародышей происходил лишь в тепле. По окончании периода стратификации длина зародышей в обоих вариантах составляла более 4,5 мм. После высадки зародышей на питательную среду отмечался их интенсивный рост – за 12 дней культивирования *in vitro* длина зародышей увеличилась почти в 10 раз, главным образом за счет роста семядоли. Зародышевый корень также развивался, но значительно медленнее (Рис. 1 е, f).



Рис. 2. Растения и экспланты, культивируемые на питательной среде в культуре *in vitro*
 а, b – растения, использованные для микроклонального размножения; с-f и g-j – два экспланта (поперечные срезы выше донца луковицы) на разных стадиях инициации и регенерации побегов.
 Масштабная линейка. с – 4 мм

Fig. 2. Plants and explants cultivated on the nutrient medium in the *in vitro* culture
 а, b – the plants used for microclonal propagation; с-f and g-j – two explants (cross-sections above the stem of the bulb) at different stages of initiation and regeneration of shoots.
 Scale bar. с – 4 mm

Микроклональное размножение растений, выращенных в культуре изолированных зародышей. Для клонирования использовали растения из вариантов 5 и 6. Растения на момент клонирования имели луковицу, листовидную семядолу, несколько листьев с утолщенными основаниями и несколько адвентивных корней (Рис. 2 а, б). В качестве эксплантов использовали все указанные в методике части растений.

Фрагменты пластинок семядолы не проявили регенерационной способности. Наблюдалось только увеличение их размеров без последующей пролиферации. В течение нескольких месяцев они сохраняли зеленую окраску, впоследствии дегенерировали.

Поперечные срезы луковицы в районе донца также не дали регенерационного ответа. Тогда как регенерационная способность поперечных срезов выше донца луковицы в районе мясистых оснований семядолы, листьев, а также мясистой центральной части стебля, оказались эффективными эксплантами для микроклонального размножения (Рис. 2 с-ж). После помещения их на поверхность питательной среды через неделю наблюдалось разрастание оснований листовых органов, экспланты увеличивались в размерах. Появление морфогенных структур отмечалось через 1,5 месяца культивирования. В основании листьев, снаружи экспланта, а также внутри экспланта в основании влагалищ внутренних листьев и центральной части стебля, закладывались почки. Если процесс их инициации длился 1,5-2 месяца, то дальнейшее развитие происходило сравнительно быстро, и спустя месяц они приобретали вид луковицеподобных структур с листовидными органами.

Полученные культуры использовали для нового цикла микроклонального размножения, а также для укоренения и получения нормальных растений.

Для микроклонального размножения проводили деление на фрагменты эксплантов с заложившимися побегами, которые пересаживали на питательную среду; это приводило к образованию новых дополнительных побегов.

Для укоренения и дальнейшего роста растений побеги отделяли от тканей первичного экспланта и высаживали на питательную среду (1/2 МС) без физиологически активных веществ. Через несколько месяцев культивирования из них выросли нормально сформированные растения, которые имели луковицу, несколько листьев с утолщенными основаниями и адвентивные корни.

Обсуждение

Опыты по проращиванию стратифицированных семян *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* на влажной фильтровальной бумаге в чашках Петри показали, что семена жизнеспособны: в 100% случаев происходило доразвитие зародыша, 86-100% проросли (Butuzova et al., 2023). Поскольку в настоящем эксперименте была использована только часть семян из вышеуказанного опыта, то можно

сделать вывод, что на его начальный момент все зародыши были живые. В ходе проведения опыта оказалось, что способность зародышей развиваться в культуре *in vitro* зависит от температурных режимов при стратификации семян (см. Таблица). Так, зародыши, изолированные из семян, не прошедших стратификацию, зародыши, изолированные после 3 месяцев стратификации семян при 20°C (вариант 1) или после 3 месяцев старатификации при постоянной температуре 9-10°C (вариант 3), либо не росли совсем, либо развивались с аномалиями, а в дальнейшем погибали в результате некроза.

В варианте 2 (стратификация при 20°C в течение 3 мес. + 9-10°C – 1 мес.) из семян были выделены зародыши, достигшие примерно 1 мм в длину (см. Таблица), то есть начавшие расти. Это свидетельствует о том, что при введении зародышей в культуру *in vitro* у них, по-видимому, был выключен ФМТ доразвития (Andronova et al., 2019; Butuzova et al., 2019) и стимулирован рост. В процессе культивирования рост зародышей продолжался, через месяц их средняя длина составила 5,11±0,17 мм, но их дальнейшее развитие сопровождалось аномалиями, через некоторое время они все претерпевали некроз.

Только в вариантах 4, 5 и 6 были получены проростки нормального строения; в этих вариантах для посадки на культуральную среду в условиях *in vitro* использовали зародыши длиной 4,5 мм, завершившие доразвитие внутри семени. Однако только теплая стратификация в варианте 4 не выключала у доразвившегося зародыша ФМТ роста зародышевого корня. Он оставался в виде зачатка и в процессе культивирования зародыша *in vitro* отмирал, а его функцию выполняли адвентивные корни, сформировавшиеся в основании луковицы.

По результатам, полученным в вариантах 1-4, можно заключить, что для нормального морфогенеза зародыша недостаточно блокировать ФМТ доразвития (как например, в вариантах 1-3), равно как и стимулировать начало роста зародыша (варианты 2 и 3). Необходимо полное завершение процесса доразвития, и только после этого можно использовать зародыши в качестве эксплантов для культивирования *in vitro*. Вероятно, на протяжении всего процесса доразвития внутри семени у зародыша сохраняется связь с окружающими его структурами, которые контролируют этот процесс от начала до конца. В ранних работах мы указывали на существование одного механизма торможения доразвития, локализованного в самом зародыше (Andronova et al., 2019; Butuzova et al., 2019). Результаты настоящего исследования позволяют сделать вывод о существовании еще одного механизма торможения развития зародыша, который реализуется в окружающих его структурах семени.

В вариантах 5 и 6, где семена стратифицировали 8-9 месяцев не только в тепле, но и под воздействием периодов холода при 0-2°C разной продолжительности, зародыши проходили доразвитие, а также у них был выключен ФМТ развития зародышевого корня. Из таких зародышей в культуре *in vitro* быстро развивались морфо-

логически нормальные проростки, а затем растения. При этом не имело значения, в какой момент и какой длительности была обработка холодом. Важным оказалась только суммарная протяженность холодного периода – четыре месяца в варианте 5 и три месяца в варианте 6.

Таким образом, для введения в культуру *in vitro* изолированных зародышей кардиокринума требуется проводить длительную стратификацию семян. Необходимо блокировать ФМТ доразвития зародыша, что происходит при теплой стратификации в течение не менее 5 месяцев (2,5 мес. при 20°C и 2,5 мес. при 9-10°C). Если для стратификации использовать обработку холодом (не менее 3 мес.), то это позволит отключить ФМТ развития зародышевого корня, но при этом сроки обработки семян увеличиваются.

В опытах по проращиванию семян на влажной фильтровальной бумаге чередование периодов теплой и холодной стратификации до и в процессе доразвития зародыша не приводило к проклевыванию корешком покровов семени сразу после окончания доразвития зародыша. Необходим был еще один период длительной холодной стратификации семян для отмены ФМТ роста зародышевого корня (Andronova et al., 2019; Butuzova et al., 2019; 2023). В настоящем исследовании у изолированных зародышей, прошедших доразвитие в семенах при чередовании теплой и холодной стратификации, и затем высаженных на культуральную среду, корень развивался нормально (варианты 5 и 6). Это указывает на то, что ФМТ прорастания, работающий в зародыше, был блокирован в период доразвития зародыша. В лабораторных условиях вторую дополнительную обработку семян низкими температурами после доразвития зародыша можно исключить.

Сформированные изолированные зародыши широко используются в технологиях *in vitro*, поскольку способны к росту на искусственной питательной среде вне материнского организма. Из этого следует, что у семян, имеющих стадию покоя, процедура изолирования зародыша и культивирование его на питательной среде *in vitro* позволяет не учитывать ФМТ прорастания. Однако это утверждение справедливо не для всех растений. Например, в культуре *in vitro* зародышей, изолированных из зрелых нестратифицированных семян *C. cordatum* var. *glehnii*, ФМТ прорастания продолжает работать.

Сходный тип покоя (сложный МФП) наблюдается у видов рода *Fritillaria*. Так, установлено, что у *Fritillaria pallidiflora* Schrenk ex Fisch. & C.A. Mey. ФМТ доразвития зародыша и прорастания семян выключается при длительной (более 5 мес.) холодной стратификации (Pozdova et al., 2008). В связи с вышеуказанными особенностями, использование зародышей, выделенных из зрелых семян представителей рода *Fritillaria*, как и *C. cordatum* var. *glehnii*, является проблемным. Успешным для *Fritillaria* оказалось введение в культуру *in vitro* изолированных зародышей незрелых семян, в которых стадия покоя еще не наступила (Muraseva, Novikova, 2018) или зародышей, завершивших доразвитие в семени

(Vetchinkina, 2010).

В целом для введения в культуру *in vitro* изолированных зародышей *C. cordatum* var. *glehnii* требуется больше времени, чем для большинства других растений. Однако применение данного метода дает возможность для более быстрого получения растений кардиокринума по сравнению с обычными приемами проращивания его семян в лабораторных условиях и по сравнению с семенным размножением в природных условиях.

В большинстве работ по микроклональному размножению представителей рода *Lilium* и других лилейных основным типом эксплантов считаются сегменты луковичных чешуй (Churikova, 2000; Lian et al., 2003; Joshi, Dhar, 2009; Uranbey et al., 2010; Liu, Yang, 2012; Rahimi et al., 2013; Muraseva, 2016; Shibanova, Popkova, 2020). Отмечено, что регенерация луковичек происходит преимущественно в их базальной части (Marinangeli et al., 2003; Khawar et al., 2005).

Наши исследования согласуются с данными литературы о том, что основание листьев (луковичных чешуй) у представителей рода *Lilium* обладают высокой регенерационной способностью. Как было показано, закладка дополнительных луковичеподобных структур наблюдалась на поперечных срезах луковицы *C. cordatum* var. *glehnii* выше донца в основании мясистых оснований семядоли и листьев. После переноса на среду ½ МС у побегов формировались адвентивные корни и нормально развитые листья. Дополнительные побеги были успешно использованы для последующего цикла микроклонального размножения. Нами показано, что размножение этого редкого вида в культуре *in vitro* с использованием выращенных из зародышей стерильных растений является высоко эффективным методом.

Заключение

Для успешного введения в культуру изолированных зародышей *C. cordatum* var. *glehnii* необходимо использовать для посадки уже доразвившиеся зародыши, длиной 4-5 мм. Для этого необходимо провести предварительную длительную, в течение не менее семи месяцев, теплую и холодную стратификацию семян. В течение этой обработки необходимо последовательно отключить три механизма торможения прорастания из четырех, требуемых для нормального хода морфогенеза проростков. Первые два – это механизмы торможения доразвития зародыша и запуска его роста внутри семени, которые выключаются только в тепле с перепадом температур (с 20°C на 9-10°C), третий и четвертый – это механизмы торможения прорастания, которые блокируются при длительной (3-4 месяца) обработке холодом (0-2°C). Один из них функционирует в самом зародыше, и его можно отключить воздействием холода во время доразвития. При изолировании зародышей нет необходимости выключать четвертый ФМТ прорастания, который действует в окружающих зародыш структурах семени.

Выращенные из зародышей растения можно использовать для дальнейшего микроклонального размножения. Если первый этап – введение в культуру *in vitro* и получение стерильных растений – длительный, и требует знаний об особенностях покоя семян данного вида, то после введения в культуру массовое размножение этого редкого вида с использованием выращенных из зародышей стерильных растений имеет высокую эффективность и не представляет особых проблем, как и в случае многих других представителей лилейных.

References/Литература

- Andronova E., Butuzova O., Torshilova A. Mechanisms of seed dormancy in *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (Liliaceae). *Botanica Pacifica. A journal of plant science and conservation*. 2019;8(2):19-24. DOI: 10.17581/bp.2019.08206
- Benson E.E. *Plant Conservation Biotechnology*. London, Philadelphia, PA: Taylor & Francis; 2002.
- Biological resources of the Russian Federation (Biologicheskiye resursy Rossiyskoy Federatsii): [web portal]. [in Russian] (Биологические ресурсы Российской Федерации: [web-портал]). URL: <http://www.sevin.ru/bioresrus/> [дата обращения: 24.10.2024].
- Butuzova O., Torshilova A., Andronova E. Seed dormancy in *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (Liliaceae) and ways of its overcoming. *International Journal of Plant Reproductive Biology*. 2019;11(1):51-57. DOI: 10.14787/ijprb.2019.11.1
- Butuzova O.G., Kovaleva A.A., Andronova E.V. The effect of cold treatment on seed germination of *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (Liliaceae). *Botanicheskiy zhurnal = Botanical Journal*. 2023;108(12):85-93. [in Russian] (Бутузова О.Г., Ковалева А.А., Андропова Е.В. Влияние холода на прорастание семян *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (Liliaceae). *Ботанический журнал*. 2023;108(12):85-93). DOI: 10.31857/S0006813623120037
- Churikova O.A. Some features of morphogenesis of lilies and hyacinths during clonal *in vitro* micropropagation (Nekotorye osobennosti morfogeneza lilii i giatsintov pri klonalnom mikrorazmnozhenii *in vitro*). In: *Morfofiziologiya of specialized runaways of long-term grassy plants: the Program and theses of reports of the All-Russia meeting (Morfofiziologiya spetsializirovannykh pobegov mnogoletnikh travyanistykh rastenii: Programma i tezisy dokladov Vserossiyskogo soveshchaniya); 2000 October 3-5; Syktyvkar, Russia*. Syktyvkar; 2000. p.171-172. [in Russian] (Чурикова О.А. Некоторые особенности морфогенеза лилий и гиацинтов при клональном микроразмножении *in vitro*. В кн.: *Морфофизиология специализированных побегов многолетних травянистых растений: программа и тезисы докладов Всероссийского совещания; 3-5 октября 2000 г.; Сыктывкар, Россия*. Сыктывкар; 2000. С.171-172).
- Hori K., Watanabe T., Devkota H.P. Phenolic acid derivatives, flavonoids and other bioactive compounds from the leaves of *Cardiocrinum cordatum* (Thunb.) Makino (Liliaceae). *Plants*. 2021;10(2):320. DOI: 10.3390/plants10020320
- Joshi S.K., Dhar U. *In vitro* propagation from axenic explants of *Lilium oxyptalum* (D. Don) Baker, an endemic bulbous plant of high altitude Himalaya. *Acta physiologiae plantarum*. 2009;31:833-838. DOI: 10.1007/s11738-009-0299-y
- Khawar K.M., Cocu S., Parmaksiz I., Sarihan E.O., Ozcan S. Mass proliferation of Madonna lily (*Lilium candidum* L.) under *in vitro* conditions. *Pakistan Journal of Botany*. 2005;37(2):23-248.
- Lian M.L., Chakrabarty D., Paek K.Y. Bulblet formation from bulb scale segment of *Lilium* using bioreactor system. *Biologia plantarum*. 2003;46(2):199-203. DOI: 10.1023/A:1022890208500
- Liu X., Yang G. Adventitious shoot regeneration of oriental lily (*Lilium orientalis*) and genetic stability evaluation based on ISSR marker variation. *In Vitro Cellular & Developmental Biology. Plant*. 2012;48(2):172-179. DOI: 10.1007/s11627-012-9429-0
- Marinangeli P.A., Hernandez L.F., Pellegrini C.P., Curvetto N.R. Bulblet differentiation after scale propagation of *Lilium longiflorum*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 2003;128(3):324-329. DOI: 10.21273/JASHS.128.3.0324
- Momotomi F., Raju A., Wang D., Alsaadi D.H.M., Watanabe T. Phytochemical analysis and habitat suitability mapping of *Cardiocrinum cordatum* (Thunb.) Makino collected at Chiburijima, Oki Islands, Japan. *Molecules*. 2022;27(23):8126. DOI: 10.3390/molecules27238126
- Muraseva D.S. Propagation and conservation *in vitro* of rare and endemic species of *Fritillaria* L. genus (Razmnozheniye i sokhraneniye redkikh i endemichnykh vidov roda *Fritillaria* L.) [dissertation]. Novosibirsk; 2016. [in Russian] (Мурацева Д.С. Размножение и сохранение редких и эндемичных видов рода *Fritillaria* L.): дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск; 2016).
- Muraseva D.S., Novikova T.I. *In vitro* culture initiation using immature seeds of a rare species *Fritillaria meleagroides* Patrin ex Schult. et Schult. fil. (Liliaceae). *Tomsk State University Journal of Biology*. 2018;44:172-187. [in Russian] (Мурацева Д.С., Новикова Т.И. Индукция культуры *in vitro* редкого вида *Fritillaria meleagroides* Patrin ex Schult. et Schult. fil. (Liliaceae) с использованием незрелых семян. *Вестник Томского государственного университета. Биология*. 2018;44:172-187).
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15(13):473-479. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- Nikolaeva M.G. Seed dormancy and ways of its overcoming. *Russian Journal of Developmental Biology*. 1983;24(4):79-86. [in Russian] (Николаева М.Г. Покой семян и способы его преодоления. *Онтогенез*. 1983;24(4):79-86).
- On approval of the List of flora species listed in the Red Book of the Russian Federation: order of the Ministry of Natural Resources and Environment of the Russian Federation dated 23.05.2023 No. 320 (Ob utverzhdenii Perechnya ob"yektov rastitel'nogo mira, занесенных в Красную книгу Rossiyskoy Federatsii: prikaz Ministerstva prirodnykh resursov i ekologii Rossiyskoy Federatsii ot 23.05.2023 № 320). Moscow; 2023. [in Russian] (Об утверждении Перечня объектов растительного мира, занесенных в Красную книгу Российской Федерации: приказ Министерства природных ресурсов и экологии Российской Федерации от 23.05.2023 № 320. Москва; 2023). URL: <https://minjust.consultant.ru/documents/48550> [дата опубликования: 21.07.2023].
- Pozdova L.M., Titova G.E., Butuzova O.G. Seed germination in *Fritillaria pallidiflora* (Liliaceae) under gibberellin and kinetin influence. *Plant resources*. 2008;4:30-42. [in Russian] (Поздова Л.М., Титова Г.Е., Бутузова О.Г. Прорастание семян *Fritillaria pallidiflora* (Liliaceae) под действием гиббереллина и кинетина. *Растительные ресурсы*. 2008;4:30-42).
- Prasanth C., Baddigam K.R., Kailas K.A. Embryo Culture and its Application in Biotechnology. *Plant Sciences at a Glance*. 2023;14:269-280.
- Rahimi M., Daneshvar M.H., Heidari M., Yari F. *In vitro* micropropagation of *Fritillaria imperialis* L. through induction of indirect organogenesis. *International Journal of Agronomy and Plant Production*. 2013;4(3):418-424.
- Shibanova N.L., Popkova A.S. Micropropagation of some sort groups of lilies. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologiya*. 2020;4:280-285. [in Russian] (Шибанова Н.Л., Попкова А.С. Микроклональное размножение некоторых сортогрупп лилий. *Вестник Пермского университета. Биология*. 2020;4:280-285). DOI: 10.17072/1994-9952-2020-4-280-285
- Uranbey S., Ipek A., Caliskan M., Dunder E., Cocu S., Basalma D., Guneylioglu H. *In vitro* bulblet induction from bulb scales of endangered ornamental plant *Muscari azureum*. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2010;24:2:1843-1848. DOI: 10.2478/V10133-010-0024-4
- Vetchinkina E.M. Biological features of *in vitro* cultivation of seeds and embryos of rare plant species (Biologicheskiye osobennosti kultivirovaniya *in vitro* semayn i zarodyshey redkikh vidov rasteniy) [dissertation]. Moscow: Main Botanical Garden named after N.V. Tsitsin of the Russian Academy of Sciences; 2010. [in Russian] (Ветчинкина Е.М. Биологические особенности культивирования *in vitro* семян и зародышей редких видов растений): дис. ... канд. биол. наук. Москва: Главный

ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук; 2010).
Voronkova N.M., Kholina A.B., Zhuravlev Yu.N., Sundukova E.V. Reproduction of the Russian Far East Plants. 2023. [in Russian] (Воронкова Н.М., Холина А.Б., Журавлев Ю.Н., Сундукова Е.В. Размножение растений российского Дальнего Востока; 2023). DOI: 10.25221/seeds
Zheleznicenko T.V., Novikova T.I., Banaev E.V. Efficiency of

application of embryo cultural method for breaking dormancy in *Nitraria sibirica* (Nitrariaceae) seeds. *Rastitel'nyj mir Aziatskoj Rossii = Flora and vegetation of Asian Russia*. 2016;4(24):56-62. [in Russian] (Железниченко Т.В., Новикова Т.И., Банаев Е.В. Эффективность использования метода эмбриокультуры для преодоления покоя семян *Nitraria sibirica* (Nitrariaceae). *Растительный мир Азиатской России*. 2016;4(24):56-62). DOI: 10.21782/RMAR1995-2449-2016-4(56-62)

Информация об авторах

Елена Валентиновна Андропова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория эмбриологии и репродуктивной биологии, Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук (БИН РАН), 197022 Россия, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 2, elena_andronova@binran.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3918-2094>

Оксана Геннадьевна Бутузова, научный сотрудник, лаборатория эмбриологии и репродуктивной биологии, Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук (БИН РАН), 197022 Россия, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 2, obutuzova@binran.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3526-7453>

Алина Александровна Ковалева, младший научный сотрудник, лаборатория эмбриологии и репродуктивной биологии, Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук (БИН РАН), 197022 Россия, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 2, akovaleva@binran.ru

Екатерина Юрьевна Семенова, младший научный сотрудник, лаборатория эмбриологии и репродуктивной биологии, Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук (БИН РАН), 197022 Россия, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 2, esemenova@binran.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3121-2458>

Information about the authors

Elena V. Andronova, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Embryology and Reproductive Biology, Komarov Botanical Institute, Russian Academy of Science (BIN RAS), 2, Professor Popov Street, St. Petersburg, 197022 Russia, elena_andronova@binran.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3918-2094>

Oksana G. Butuzova, Cand. Sci. (Biology), Researcher, Laboratory of Embryology and Reproductive Biology, Komarov Botanical Institute, Russian Academy of Science (BIN RAS), 2, Professor Popov Street, St. Petersburg, 197022 Russia, obutuzova@binran.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3526-7453>

Alina A. Kovaleva, Junior Researcher, Laboratory of Embryology and Reproductive Biology, Komarov Botanical Institute, Russian Academy of Science (BIN RAS), 2, Professor Popov Street, St. Petersburg, 197022 Russia, akovaleva@binran.ru

Ekaterina Yu. Semenova, Junior Researcher, Laboratory of Embryology and Reproductive Biology, Komarov Botanical Institute, Russian Academy of Science (BIN RAS), 2, Professor Popov Street, St. Petersburg, 197022 Russia, esemenova@binran.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3121-2458>

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 02.11.2024; одобрена после рецензирования 06.12.2024; принята к публикации 20.12.2024.

The article was submitted on 02.11.2024; approved after reviewing on 06.12.2024; accepted for publication on 20.12.2024.

Научная статья

УДК 634.723:634.23:581.17

DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-01



Влияние сроков отбора почек и метеорологических факторов на результативность введения образцов смородины черной в культуру *in vitro*

С. Е. Дунаева, О. А. Тихонова, Л. Л. Малышев, Т. А. Гавриленко

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

Автор, ответственный за переписку: Татьяна Андреевна Гавриленко, tatjana9972@yandex.ru

Актуальность. Введение образцов полевой коллекции в культуру *in vitro* обеспечивает сохранение их в контролируемых условиях среды. В литературных источниках встречаются противоречивые данные об оптимальном сроке введения в культуру *in vitro* образцов смородины черной (*Ribes nigrum* L.), что может быть связано как с влиянием абиотических факторов, так и с генотипическими особенностями образцов, а также с характеристиками эксплантов и с условиями их культивирования. В связи с этим цель работы состояла в изучении влияния сроков отбора почек с растений полевой коллекции и влияния метеорологических факторов на результат введения в культуру *in vitro* образцов смородины черной различного происхождения. **Материалы и методы.** В течение летнего периода 2019-2022 годов в культуру *in vitro* вводили почки с годовых побегов 30 образцов смородины черной из полевой коллекции ВИР. Все этапы введения почек в качестве эксплантов в культуру *in vitro* проводили в соответствии с Методическими указаниями ВИР. Метеорологические данные были получены из отдела автоматизированных информационных систем генетических ресурсов растений ВИР. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программ "Statistica 10.0". **Результаты.** Выявлена высокая сопряженность между результативностью введения образцов в культуру *in vitro* и генотипом, а также месяцем и годом, в которые проводили отбор эксплантов. К метеорологическим факторам, влияющим на результативность введения образцов смородины черной в культуру *in vitro*, относятся: температура и влажность воздуха в день отбора почек и влажность воздуха за декаду перед взятием эксплантов. Продолжительность периода от начала вегетации растений в полевой коллекции до даты отбора почек также оказывала существенное влияние на результат введения образца в культуру *in vitro*. **Заключение.** В случае отбора почек в июне доля инфицированных эксплантов существенно ниже, а доля жизнеспособных – выше, по сравнению с почками, взятыми в последующие летние месяцы. Для успешного введения образцов из полевой коллекции в культуру *in vitro* оптимальными погодными условиями являются низкая влажность воздуха и относительно высокая температура в день отбора эксплантов, а также низкая влажность воздуха за декаду перед взятием почек с растений полевой коллекции.

Ключевые слова: *Ribes nigrum* L., сорта, генбанк, *in vitro* коллекция, метеорологические факторы, введение эксплантов в культуру *in vitro*

Благодарности: Статья подготовлена согласно тематическому плану ВИР по теме: № FGEM-2022-0004.

Для цитирования: Дунаева С.Е., Тихонова О.А., Малышев Л.Л., Гавриленко Т.А. Влияние сроков отбора почек и метеорологических факторов на результативность введения образцов смородины черной в культуру *in vitro*. *Биотехнология и селекция растений*. 2024;7(4):92-104. DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-01

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

© Дунаева С.Е., Тихонова О.А., Малышев Л.Л., Гавриленко Т.А., 2024

Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-01

The influence of the timing of bud collection and meteorological factors on the effectiveness of introducing black currant accessions into *in vitro* culture

Svetlana E. Dunaeva, Olga A. Tikhonova, Leonid L. Malyshev, Tatjana A. Gavrilenko

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

Corresponding author: Tatjana A. Gavrilenko, tatjana9972@yandex.ru

Background. The introducing of the accessions from the field collection into *in vitro* culture ensures their preservation under controlled environmental conditions. The literature sources offer contradictory information on the seasonal periods considered as the optimal ones for introducing samples of black currant *Ribes nigrum* L. into *in vitro* culture. This may be due to both the influence of abiotic factors and the genotypic characters of the accessions, as well as the characteristics of the explants and their cultivation conditions. In this regard, the purpose of this study was to analyze the influence of the period of buds' isolation, and of the meteorological factors, such as temperature, precipitation, and humidity, on the results of introducing diverse black currant accessions from the field collection into *in vitro* culture. **Materials and methods.** The plant material included 30 black currant accessions from the VIR field collection. In different months of the summer periods of 2019-2022, buds were isolated from annual shoots to introduce them as explants into *in vitro* culture. All stages of introducing buds into *in vitro* culture were carried out in accordance with the Methodological Guidelines of VIR. Meteorological data were obtained from the VIR Department of Automated Information Systems for Plant Genetic Resources. The data were statistically processed using the "Statistica 10.0" package. **Results.** A strong contingency was found between the effectiveness of introducing explants into *in vitro* culture and the genotype, as well as the month and year in which the buds were selected. Meteorological factors influencing the results of introducing black currant explants into *in vitro* culture include temperature and air humidity on the day of bud collection and air humidity in the decade before taking explants. The duration of the period from the beginning of plants vegetation in the field collection to the date of bud sampling also had a significant impact on the result of introducing the explant into *in vitro* culture. **Conclusion.** In the case of bud selection in June, the proportion of infected explants is significantly lower, and the proportion of viable explants is higher, compared to buds taken in subsequent summer months. For the successful introducing of buds from a field collection into *in vitro* culture, the optimal weather conditions are low air humidity and relatively high temperature on the day of buds' collection, as well as low air humidity in the decade before taking buds from plants of the field collection.

Keywords: *Ribes nigrum* L., cultivars, gene bank, *in vitro* collection, meteorological factors, introduction of explants into *in vitro* culture

Acknowledgements: The research was performed in accordance with the Thematic Plan of VIR № FGEM-2022-0004.

For citation: Dunaeva S.E., Tikhonova O.A., Malyshev L.L., Gavrilenko T.A. The influence of the timing of bud collection and meteorological factors on the effectiveness of introducing black currant accessions into *in vitro* culture. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2024;7(4):92-104. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-01

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

© Dunaeva S.E., Tikhonova O.A., Malyshev L.L., Gavrilenko T.A., 2024

Введение

Смородина черная (*Ribes nigrum* L.) относится к обширному роду *Ribes* L., насчитывающему около 150 видов, произрастающих в умеренной зоне Европы, Азии, Северной Африки, Северной и Южной Америки (Vitkovsky, 2003; Sedov, 2009). Смородина черная (*Ribes nigrum* L.) – одна из наиболее ценных ягодных культур. Популярность ее объясняется высокой продуктивностью, скороплодностью и относительной неприхотливостью при возделывании. Она занимает лидирующее положение среди ягодных культур по содержанию питательных и биологически активных веществ, отличается высокой витаминной ценностью плодов (Sokolov, Zamotaev, 1988; Samorodova-Bianki et al., 1992; Tikhonova et al., 2015; Lyashenko et al., 2019; Sun et al., 2021).

Межвидовые скрещивания смородины черной *R. nigrum* оказались достаточно успешными при гибридизации с 26 видами рода, но в формировании сортамента в той или иной степени принимали участие только 10 видов (Ogoltsova, 1992). Большинство же современных сортов создано с участием европейского и сибирского подвидов *R. nigrum* subsp. *europaeum* Jancz. и *R. nigrum* subsp. *sibiricum* E. Wolf, соответственно, смородины дикуши *R. dikuscha* Fisch. ex Turcz. и скандинавского эко-типа смородины черной.

В настоящее время в нашей стране и за рубежом насчитывают более 1200 сортов смородины черной (Knyazev et al., 2016). Ведущая роль в селекции культуры принадлежит отечественным ученым, которые за относительно непродолжительный период времени вывели сорта, отвечающие запросам производства, адаптированные к природно-климатическим условиям разных регионов нашей страны (Ogoltsova, 1992). Современные отечественные сорта отличаются высокой урожайностью, самоплодностью, сочетают устойчивость к болезням и вредителям с крупноплодностью и высоким содержанием витаминов. В Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию, включено 222 сорта смородины черной, из них 221 сорт отечественной селекции (State Register..., 2024).

В мировых генбанках селекционный генофонд смородины черной сохраняется преимущественно в полевых коллекциях, из которых наиболее крупными являются коллекция Национального хранилища клоновой зародышевой плазмы – NCGR (США), включающая 1298 образцов (Jenderek et al., 2021) и коллекция ВИР, насчитывающая 1167 образцов. Приоритетные образцы сортов и гибридов полевых коллекций в виде дублетов и резервных копий сохраняются в контролируемых условиях: в клоновых *in vitro* коллекциях в виде микрорастений и в крио коллекциях в виде апексов и замороженных черенков. Видовое разнообразие рода сохраняется в ген-

банках в условиях низких температур в виде семян, а также в криобанках в виде зимующих почек.

Число образцов в коллекциях *in vitro*, как правило, невелико. В настоящее время в *in vitro* коллекции ВИР сохраняется 83 образца рода *Ribes*, в их числе 66 сортов различного генетического и эколого-географического происхождения, 11 гибридов, являющихся производными европейского и сибирского подвидов смородины черной и шесть образцов дикорастущих видов рода *Ribes* (Dunaeva et al., 2018). По численности образцов это одна из наиболее крупных коллекций, незначительно уступающая только *in vitro* коллекции национального клонового генбанка NCGR (США), включающей 134 образца рода *Ribes* (Genesys, 2024).

Приоритетными для дублирования в коллекции *in vitro* ВИР являются образцы, входящие в национальный каталог: отечественные сорта начального периода селекции; сорта российской селекции, образцы, зарегистрированные как номенклатурные стандарты в Гербарии культурных растений мира, их диких родичей и сорных растений ВИР (WIR); источники и доноры хозяйственно ценных признаков; образцы диких родичей культурных растений.

При формировании дублетной *in vitro* коллекции смородины черной обычно в качестве эксплантов используют почки годичных побегов растений полевых коллекций. Разные авторы отмечают важное значение сезонного периода для отбора почек и их успешного введения в культуру *in vitro*. В качестве оптимальных указывают: февраль-апрель – период выхода почек из покоя (Kukharchik et al., 2016); весенний (Ishmuratova, Golovina, 2017; Matushkin et al., 2019; 2020), а также летний период – июнь и вторая половина августа (Shakhov et al., 2017).

Целью наших исследований являлось изучение влияния сроков отбора почек и влияния метеорологических факторов на результат введения в культуру *in vitro* тридцати образцов смородины черной различного происхождения.

Материалы и методы

Материал для исследований включал 30 образцов смородины черной, в том числе 28 селекционных сортов, а также единичные образцы межвидовых гибридов из полевой коллекции Пушкинских и Павловских лабораторий ВИР (Приложение 1/ Supplement 1)¹.

Почки годичных побегов образцов полевой коллекции вводили в культуру *in vitro* в июне 2019 и 2022 годов, а в 2020 и 2021 годах – в июне, июле и августе. В 2019, 2020 и 2021 годах срезанные побеги разделяли на примерно равные по длине части, базальную и апикальную, почки которых в качестве эксплантов отдельно вводили

¹ Приложения доступны в онлайн версии статьи/ Supplementary materials are available in the online version of the paper: DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-01

в культуру *in vitro*. Все этапы введения образцов в культуру *in vitro* проводили в соответствии с Методическими указаниями ВИР (Dunaeva et al., 2017).

Почки погружали на 15 минут в ёмкость с мыльным водным раствором, промывали проточной водой 20 минут и стерилизовали 10 минут в растворе жидкого бытового хлорсодержащего отбеливателя АСЕ, разведенного дистиллированной водой в объёмном соотношении 1:9. Все процедуры проводили на шейкере. После стерилизации почки промывали в ламинар-боксе в трех сменах автоклавированной дистиллированной воды по 15 минут в каждой. Далее почки были высажены на питательную среду MS (Murashige, Skoog, 1962), дополненную 6-бензиламинопурином (6-БАП, 0,5 мг/л), индолил-3-масляной кислотой (0,1 мг/л), гибберелловой кислотой (0,1 мг/л), аскорбиновой кислотой в качестве антиоксидантного компонента (2 мг/л), сахарозой (30 г/л), агаром (7 г/л). Визуально выявляемые инфицированные почки удаляли в течение первых 10-20 дней. Через полтора месяца подсчитывали число эксплантов (почек), сформировавших как минимум один дополнительный побег; такие почки оценивались как жизнеспособные. Образцы, у которых культивируемые почки не прорастали или проросшие побеги претерпевали некроз, вводили в культуру *in vitro* повторно в летний сезон текущего или последующего годов.

Микроразмножение побегов проводили в несколько этапов: для первого субкультивирования использовали питательную среду того же состава (см. выше), в последующих пассажах применяли питательную среду MS с сахарозой (30 г/л), агаром (7 г/л), дополненную 6-БАП в концентрации 1 мг/л. Сформировавшиеся розеточные побеги (высотой ~0,5 см.) пересаживали для элонгации на питательную среду MS того же состава, но с пониженной концентрацией 6-БАП (0,1 мг/л).

Микропобеги укореняли на питательной среде MS с половинной концентрацией макроэлементов, сахарозой (30 г/л), агаром (7 г/л). Растительный материал культивировали при температуре 20-23°C, фотопериоде 16 часов

и освещенности 5-7 клк. Хорошо развитые укорененные микрорастения регистрировали в *in vitro* коллекции ВИР.

Метеорологические данные, фиксируемые на метеостанции, расположенной на территории Пушкинских и Павловских лабораторий ВИР, были получены из отдела автоматизированных информационных систем генетических ресурсов растений ВИР.

Статистическая обработка данных включала: корреляционный анализ, дисперсионный анализ, анализ таблиц сопряженности и соответствий. Обработку данных проводили с использованием пакета Statistica 10.0.

Результаты

Процесс введения образцов смородины черной полевой коллекции в дублетную *in vitro* коллекцию включал шесть последовательных этапов (рис. 1): (1) – вычленение почек и их стерилизация, (2) – культивирование почек-эксплантов до образования побега, адаптация эксплантов к условиям *in vitro*, (3) – оценка перехода эксплантов к автономному развитию. Экспланты оценивали как жизнеспособные, если они образовывали первые дополнительные розеточные побеги, (4) – собственно микроразмножение, (5) – перенос отделенных розеточных побегов на среду для укоренения, (6) – оценка результативности введения образца в *in vitro* культуру. Результативность «+» – означает, что получены микрорастения, образец зарегистрирован в *in vitro* коллекции; результативность «-» означает остановку развития образца на одном из этапов 1-5.

По результатам введения в культуру *in vitro* экспериментальная выборка из 30 образцов смородины черной была разделена на три группы. Первую группу сформировали 18 образцов, успешно введенные в культуру *in vitro* при однократном отборе эксплантов с растений полевой коллекции, при этом 17 из них были введены в июне и только один (сорт 'Валентина') – в июле: варианты №№ 1-18 (Приложение 2/ Supplement 2). Вторую группу составили пять образцов, для которых отбор почек и их

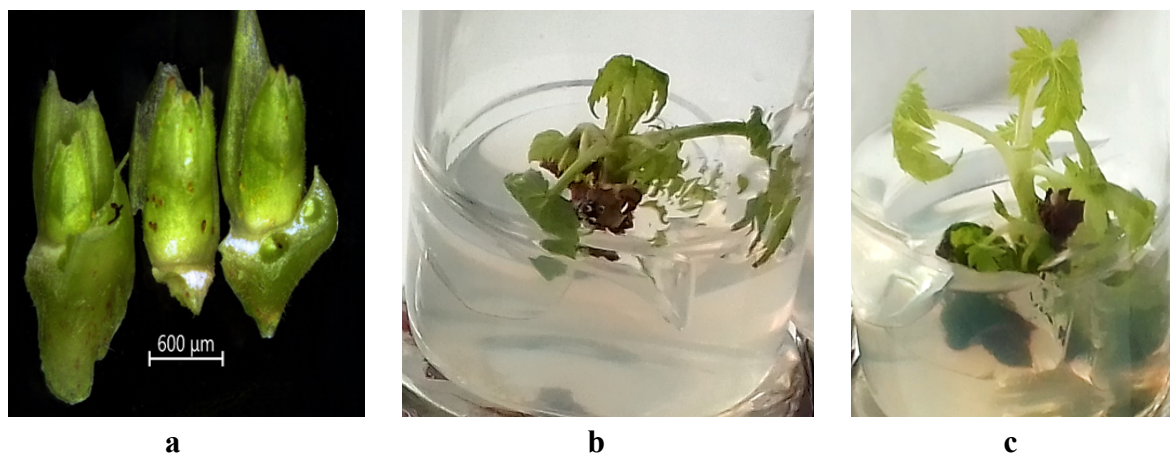


Рис. 1. продолжение на следующей старнице

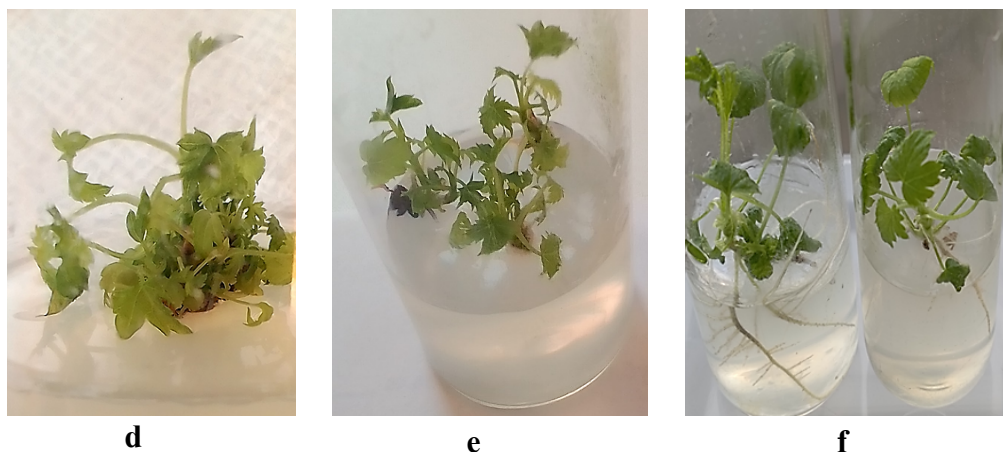


Рис. 1. Основные этапы введения образцов смородины черной в культуру *in vitro*

a – вычлененные пазушные почки, используемые в качестве эксплантов (этап 1);

- b – адаптация экспланта к условиям культивирования *in vitro* (этап 2); c – образование дополнительного розеточного побега (этап 3);
 d – микроразмножение (этап 4); e – культивирование отделенных розеточных побегов на среде для укоренения (этап 5);
 f – сформировавшиеся микрорастения. Оценка результативности введения образца в культуру *in vitro* (этап 6)

Fig. 1. Sequential steps of introducing blackcurrant accessions into *in vitro* culture

a – isolated axillary buds used as explants (stage 1); b – adaptation of the explant to *in vitro* culture conditions (stage 2);

- c – formation of an additional rosette shoot (stage 3); d – micropropagation (stage 4); e – cultivation of separated rosette shoots on rooting medium (stage 5); f – formed microplants. Evaluation of the effectiveness of introducing an accession into *in vitro* culture (stage 6)

культивирование *in vitro* в разные летние месяцы 2020 года было unsuccessful – варианты №№ 19-30 (см. Приложение 2/ Supplement 2). Эти образцы удалось ввести в *in vitro* коллекцию в следующем 2021 году – четыре образца в июне и один образец (сорт ‘Олеша’) в июле. В третью группу были объединены семь образцов, которые не удалось ввести в культуру *in vitro* даже в результате повторных отборов почек полевых растений, проведенных в летние месяцы 2019-2022 годов – варианты №№ 31-59 (см. Приложение 2/ Supplement 2).

На основании полученных четырехлетних данных мы оценили число и долю асептических и жизнеспособных эксплантов, вводимых в культуру *in vitro* в разные годы и месяцы летнего сезона.

Асептичность и жизнеспособность эксплантов. Число асептических почек подсчитывали на этапе 2, число жизнеспособных эксплантов – на этапе 3, а результативность введения образцов в культуру *in vitro* – на этапе 6 (см. рис. 1). Данные о характеристиках эксплантов 30 образцов смородины черной представлены в Приложении 2 (см. Приложение 2/ Supplement 2). Результаты статистического анализа показали, что среди почек, отобранных для *in vitro* культивирования в июне, доля асептических эксплантов была наиболее высокой, а различия между почками, взятыми с апикальной и базальной частей побега в июне, были не существенны (рис. 2). При отборе почек в июле и августе, доля асептических эксплантов снижалась, причем наиболее резко у почек, взятых с базальной части побегов (см. рис. 2).

Коэффициенты корреляции между числом асептических и жизнеспособных эксплантов различались в зави-

симости от месяца и года, но для всей выборки из 30 образцов, суммарно 1314 асептических эксплантов, из них 403 жизнеспособных, между этими показателями была получена достоверная связь ($r = 0,578$) (таблица). Низкий коэффициент корреляции, отмеченный в июне и в июле 2020 года, может означать влияние на жизнеспособность эксплантов каких-то других факторов.

Высокая доля жизнеспособных эксплантов на этапе 3 культивирования обуславливала высокую результативность введения образцов смородины черной в культуру *in vitro* ($F=74,2$; $p=0,001$; $HCP_{0,05}=11,4\%$). Так, в результативных вариантах введения образцов в культуру *in vitro*, доля жизнеспособных эксплантов составила $55,1 \pm 6,16\%$. В то же время, в нерезультативных вариантах жизнеспособность эксплантов на этапе 3 была низкой и составила $6,3 \pm 2,12\%$.

Основываясь на четырехлетних данных о числе полученных визуально асептических и жизнеспособных эксплантов, мы проанализировали влияние сроков отбора почек с образцов полевой коллекции, а также генотипических особенностей образцов и метеорологических факторов на результативность введения в культуру *in vitro* 30 образцов смородины черной.

Сроки введения эксплантов в культуру *in vitro*: год, месяц, период от начала вегетации полевых растений до отбора почек. При построении двумерной модели рассеяния и проведения анализа соответствий было отмечено существенное влияние на результативность введения образцов в культуру *in vitro* факторов «год» и «месяц» отбора почек (рис. 3). Наиболее успешные результаты были получены при отборе эксплантов в 2019

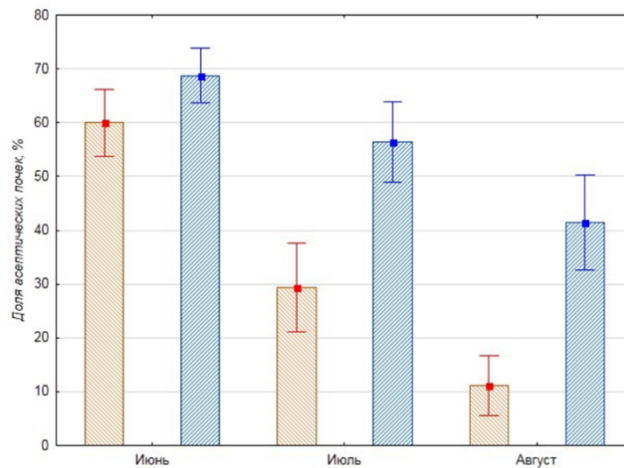


Рис. 2. Доля асептических почек, вводимых в культуру *in vitro* в разные месяцы летнего сезона

Условные обозначения: - почки с базальной части побега. - почки с апикальной части побега. На графике указаны доверительные интервалы для средних значений

Fig. 2. The proportion of aseptic buds introduced into *in vitro* culture in different months of the summer season

Designations: - buds from the basal part of a shoot; - buds from the apical part of a shoot. The graph shows confidence intervals for the mean values

Таблица. Значения коэффициентов корреляции (*r*) между числом визуально асептических и жизнеспособных эксплантов в изученной выборке образцов смородины черной

Table. The values of correlation coefficients (*r*) between the number of visually aseptic and viable explants of black currant accessions

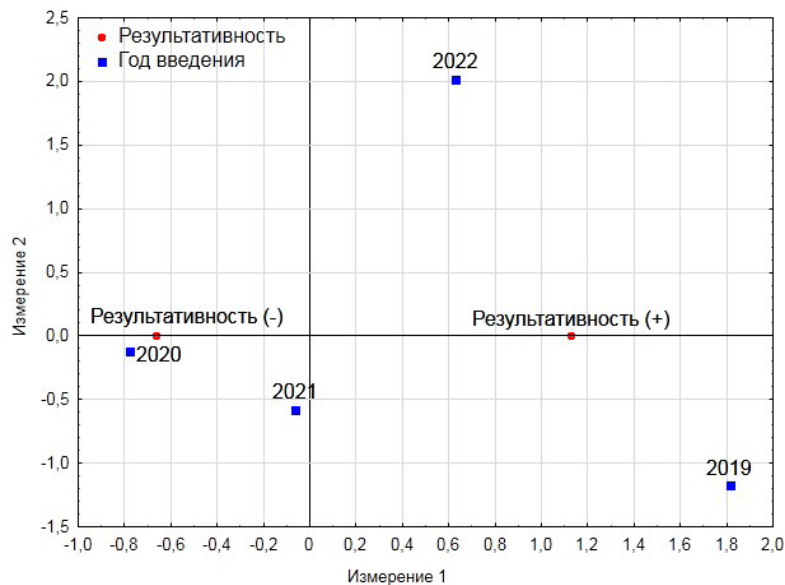
Месяц/ Month	Год/ Year	<i>r</i>	<i>p</i>
Июнь	2019	0,847*	0,008
Июнь	2020	0,123	0,793
Июнь	2021	0,572	0,066
Июнь	2022	0,176	0,605
Июль	2020	0,089	0,820
Июль	2021	0,545	0,633
Август	2020	<i>N/D</i>	<i>N/D</i>
За весь период наблюдений		0,578*	0,001

* – достоверно при $p < 0,05$ / significant at $p < 0,05$

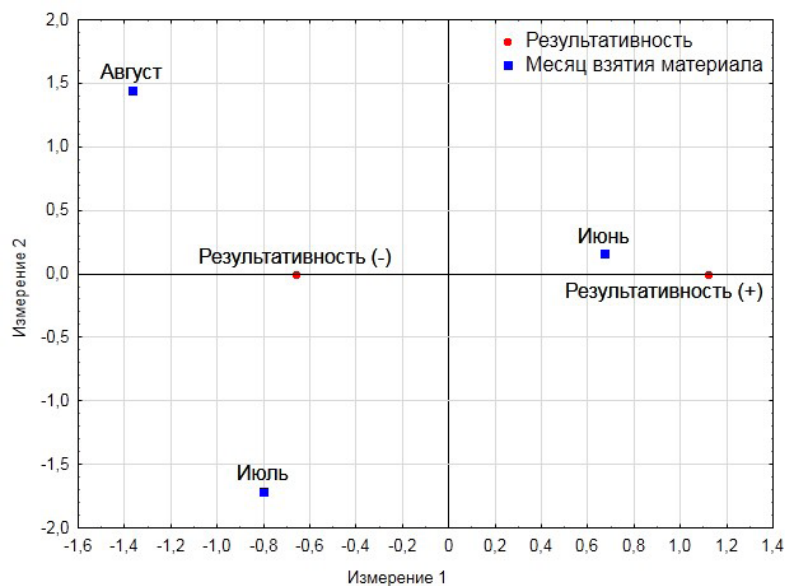
и 2022 годах (рис. 3а) и при введении эксплантов в культуру *in vitro* в июне (рис. 3б).

При изучении влияния фактора «продолжительность периода от начала вегетации образцов в полевой коллекции до даты отбора с них почек для введения в культуру *in vitro*» были использованы четырехлетние данные о продолжительности вегетационного периода 30 образцов смородины черной в полевой коллекции ВИР. Про-

должительность этого периода составила $59,1 \pm 2,34$ дней в вариантах, когда образцы были успешно введены в культуру *in vitro*, и $83,7 \pm 3,69$ дней в нерезультативных вариантах. Влияние продолжительности указанного периода на результативность введения образцов в культуру *in vitro* было достоверным ($F=19,7$; $p=0,001$; $HCP_{0,05}=11,1$).



а



б

Рис. 3. Рассеяние состояний признака «результативность введения образцов в культуру *in vitro*», в зависимости от (а) года и (б) месяца отбора почек с образцов полевой коллекции

Fig. 3. Dispersion of the states of the feature “effectiveness of introducing accessions into *in vitro* culture”, depending on (a) the year and (b) the month of sampling buds from the field collection

Выявлена высокая сопряженность между генотипом образцов и результативностью введения в культуру *in vitro* ($\chi^2=46,64$ достоверен при $p \leq 0,01$). В то же время, принадлежность образцов смородины черной к разным группам, отличающимся по происхождению (см. Приложение 1/ Supplement 1), не оказывала существенного влияния на результативность их введения в культуру *in vitro*. Расчеты проведены для 14 образцов, в родословных кото-

рых присутствовали образцы вида *R. dikuscha* ($\chi^2=0,007$, $p=0,932$), и 16 образцов, одними из предковых форм которых являлись образцы смородины черной сибирского подвида *R. nigrum* subsp. *sibiricum* ($\chi^2=1,664$, $p=0,197$).

Метеорологические условия в период вегетации растений полевой коллекции. Из метеорологических факторов для анализа были отобраны температура, коли-

чество осадков и влажность воздуха в период от начала вегетации растений полевой коллекции в апреле до окон-

чания отбора почек. Значения этих показателей в 2019-2022 годах приведены на рисунке 4.

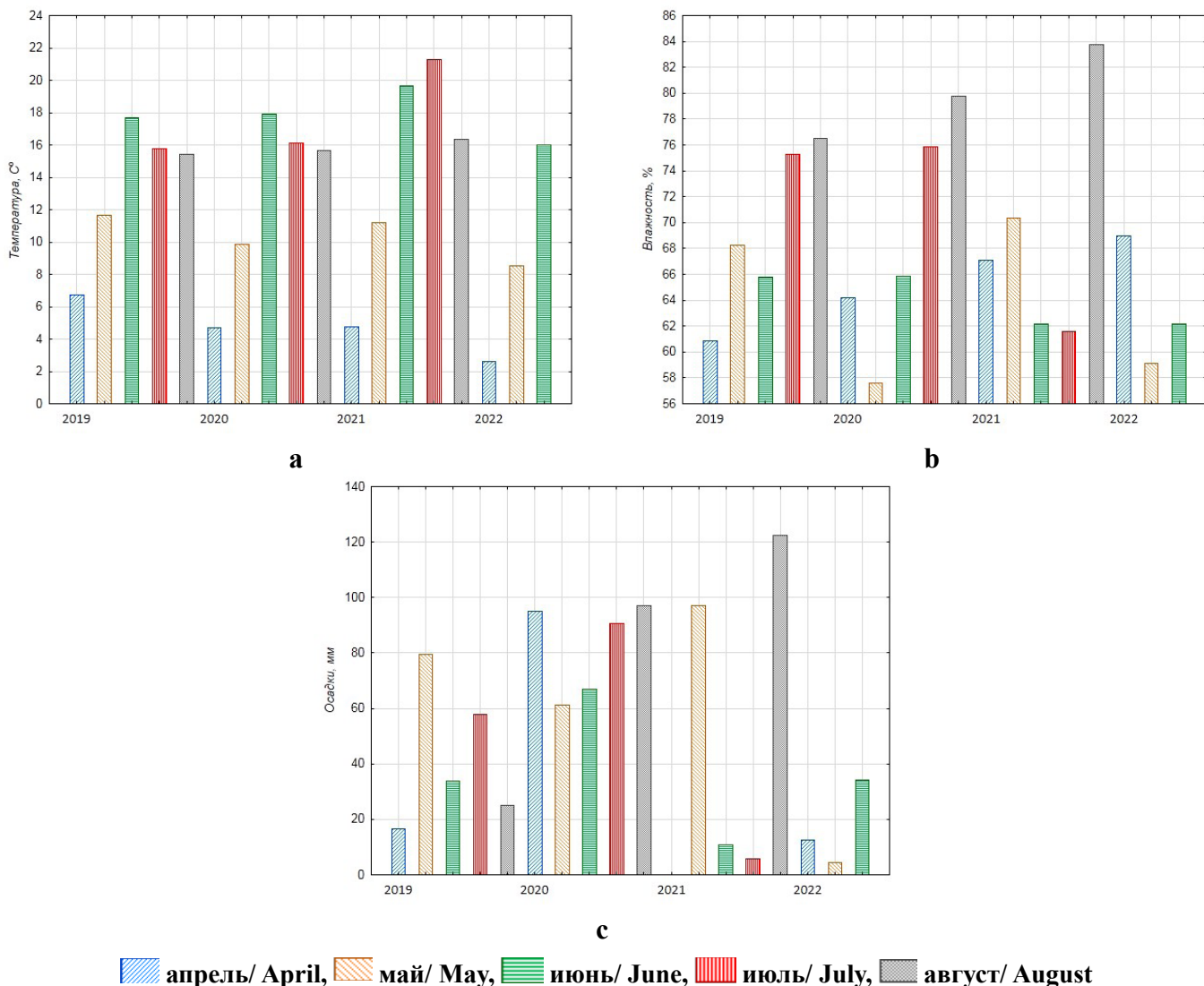


Рис. 4. Средние значения показателей температуры (а), влажности (b) и осадков (с) в период от начала вегетации растений полевой коллекции до окончания отбора почек в 2019-2022 годах
Fig. 4. Average values of temperature (a), humidity (b) and precipitation (c) during the period from the beginning of vegetation of plants in the field collection to the end of the bud sampling in 2019-2022

Для всей выборки была проведена оценка влияния на результативность введения образцов в культуру *in vitro* температуры, осадков, влажности, учитываемых в следующие сроки: (1) от начала вегетации образцов до отбора почек, (2) за декаду до отбора эксплантов, а также (3) в день отбора почек. Для (1) и (2) учитывали средние значения показателей за весь период. Полученные результаты представлены на рисунке 5 и в Приложении 3 (Приложение 3/ Supplement 3).

Как видно из данных, представленных на рисунке 5

и в Приложении 3 (см. Приложение 3/ Supplement 3), при положительных и отрицательных результатах введения образцов смородины черной в культуру *in vitro* достоверно различались показатели следующих метеорологических факторов: влажность воздуха в среднем за декаду перед отбором эксплантов, влажность воздуха в день отбора почек, средняя температура в период от начала вегетации до отбора почек и температура в день их отбора.

Таким образом, оптимальными метеорологическими

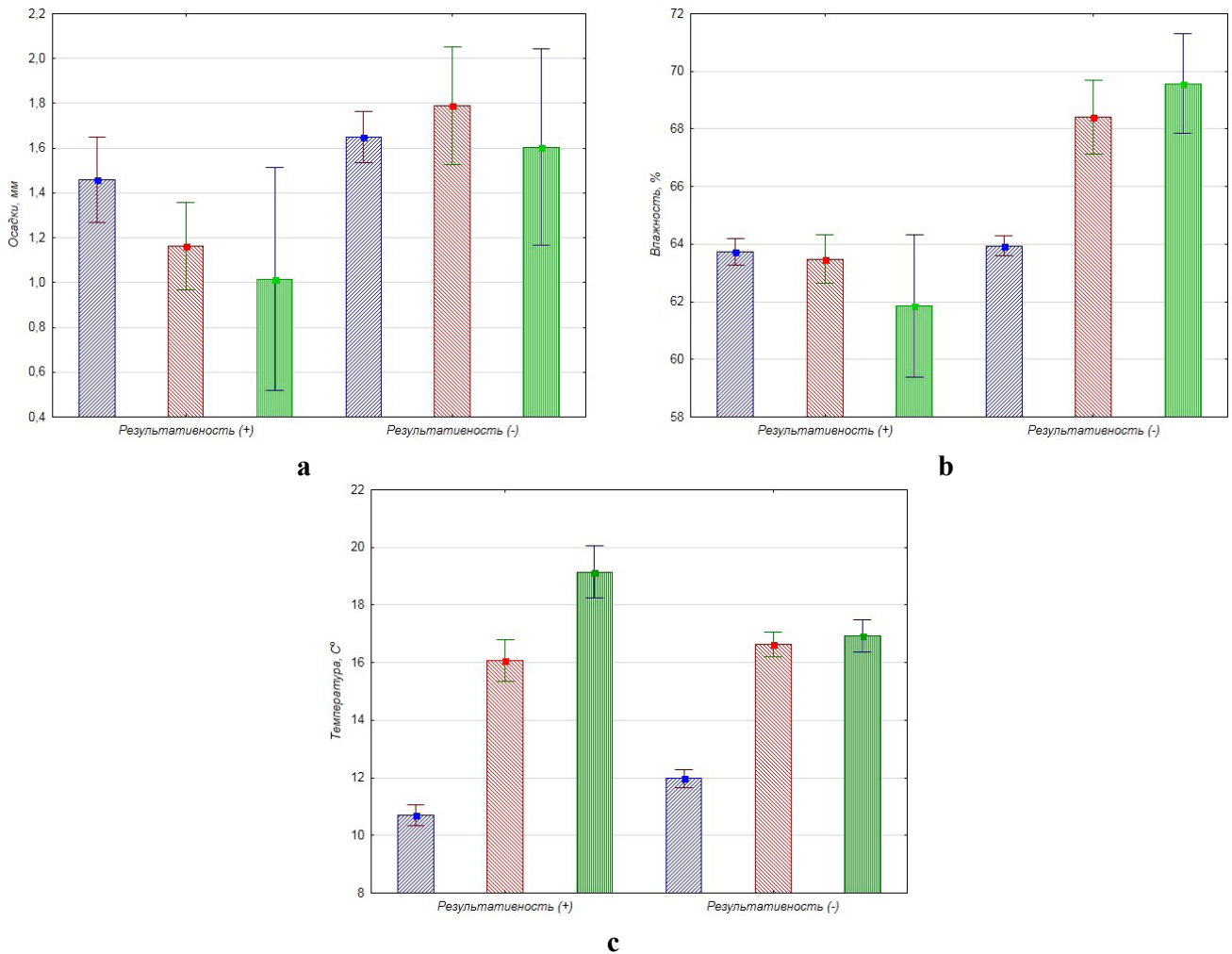


Рис. 5. Влияние метеорологических факторов на результативность введения образцов смородины черной в культуру *in vitro*

а – осадки, б – влажность, в – температура

Условные обозначения: – средние значения метеорологических показателей в период от начала вегетации до отбора эксплантов; – средние значения метеорологических показателей за декаду, предшествующую отбору эксплантов; – значения показателей в день отбора эксплантов

На графике указаны стандартные ошибки средних значений

Fig. 5. The effect of meteorological factors on the effectiveness of introducing black currant accessions into *in vitro* culture

a – precipitation, b – humidity, c – temperature

Designations: – average values of meteorological indicators during the period from the beginning of vegetation to the collection of explants; – average values of meteorological indicators for ten days before the collection of explants; – values on the day of collection of the explants

The graph shows standard errors of the mean values

Обсуждение

факторами для успешного введения образцов смородины черной в культуру *in vitro* являются низкая влажность и относительно высокая температура в день отбора эксплантов с растений полевой коллекции. Количество осадков в целом существенного влияния на результативность введения образцов в культуру *in vitro* не имело.

В литературе нет единого мнения об оптимальных сроках введения образцов смородины черной в культуру *in vitro*. Так, в ФГБНУ ВНИИ селекции плодовых культур (г. Орел) была выполнена серия работ по изучению характеристик эксплантов: инфицированность, некротизация и жизнеспособность – при введении в культуру *in vitro* четырех сортов смородины черной в разные сезоны 2018-

2021 годов. Почки отбирали в середине марта, в период выхода почек из состояния покоя в этом регионе, середине июня, в период активного роста побегов, в середине августа и в середине сентября, в период остановки роста побегов (Shakhov et al., 2017; Khromova et al., 2021; Khromova, Matsneva, 2022). В этих работах было отмечено, что экспланты, введенные в культуру *in vitro* в летний период, а именно в июне и в середине августа, характеризовались более высокой приживаемостью. При отборе почек в марте и в сентябре была отмечена большая доля инфицированных и подверженных некротизации эксплантов. Почки в период активного роста побегов были использованы для введения в культуру *in vitro* и другими авторами (Sorokopudov, Knyazeva, 2018; Matushkin, 2020). В то же время показано успешное развитие в культуре *in vitro* почек, отобранных с растений, находящихся в состоянии покоя (Kovaleva et al., 2019; Skovorodnikov et al., 2013; Lebedev, Skovorodnikov, 2016) и в стадии выхода из состояния покоя (Kukharchik et al., 2016). В нашей работе при отборе почек в июне выявлена более высокая их жизнеспособность по сравнению с отобранными в последующие летние месяцы, обусловившая более высокую результативность введения образцов в культуру *in vitro*. В июле-августе достоверно возрастала инфицированность почек, отобранных с базальной части побегов, что согласуется с данными других авторов, показавших на других культурах увеличение инфицированности и снижение жизнеспособности почек, по мере их удаления от верхушки побега (Hsia, Korban, 1996; Nobre et al., 2000; Arora et al., 2010).

В нашей работе выявлена высокая сопряженность между генотипом образцов и результативностью введения эксплантов в культуру *in vitro*, что согласуется с данными литературы. Так, существенное влияние генотипических особенностей было отмечено на разных этапах культивирования эксплантов смородины черной: на начальном этапе введения в культуру *in vitro* (Khromova et al., 2021), на этапах микроразмножения (Skovorodnikov et al., 2013) и укоренения (Matushkin, 2019), а также в ответной реакции эксплантов на разный состав питательных сред (Verzhinina, Vyadovsky, 2020). Поэтому в отдельных исследованиях подбор питательной среды проводили индивидуально для определенного сорта (Ishmuratova, Golovina, 2017; Sorokopudov, Knyazeva, 2018).

В большинстве известных нам работ для введения эксплантов смородины черной в культуру *in vitro* и последующего микроразмножения использовали питательную среду MS (Murashige, Skoog, 1962) с добавлением 6-БАП в концентрации, варьирующей в диапазоне от 0,5 мг/л до 1 мг/л или дополненную другими регуляторами роста (Orazbaeva et al., 2012; Vujović et al., 2012; Kovaleva et al., 2019; Ishmuratova, Golovina, 2017; Guseva, 2020; Verzhinina, Vyadovsky, 2020). Следует отметить, что в цитируемых работах исследования проводили либо на единичных образцах, либо на сравнительно небольшом

числе сортов (от одного до 13).

При формировании *in vitro* коллекций в генбанках, включающих большое число образцов смородины черной разного генетического и эколого-географического происхождения, не целесообразно проводить индивидуальный подбор условий культивирования. Важно выявлять факторы, оказывающие существенное влияние на успех введения различных образцов в культуру *in vitro*.

Влияние метеорологических факторов в период вегетации растений полевой коллекции на жизнеспособность почек в культуре *in vitro* практически не изучали. Нам известна только одна публикация (Khromova et al., 2021), в которой в течение четырех лет (2018-2021 годы) в разные сезоны изучали влияние погодных факторов, таких как температура и осадки, на долю эксплантов, жизнеспособных и подверженных некротизации в культуре *in vitro*. Эти характеристики эксплантов различались в зависимости от года проведения экспериментов. Авторы отмечали, что при отборе почек в весенний и осенний периоды развитие эксплантов зависело от состояния почек, связанного с периодом покоя и влиянием на него агроклиматических условий. В то же время почки, введенные в культуру *in vitro* в летние месяцы, отличались более высокой приживаемостью. В нашей работе выявлено достоверное положительное влияние на результативность введения образцов в культуру *in vitro* относительно высокой температуры в день взятия почек, а также низкой влажности в день отбора почек и за декаду перед этим.

В настоящей работе из 30 образцов выборки семь сортов смородины черной так и не удалось ввести в культуру *in vitro* в 2019-2022 годах по причинам высокой доли подверженных некрозу асептических эксплантов или слабого развития и некротизации микроразмножения на этапе собственно микроразмножения. В дальнейшей работе будет уделено внимание фитосанитарному статусу и физиологическому состоянию растений этих сортов в полевой коллекции. Не исключено, что для этой группы образцов будет использован модифицированный протокол введения эксплантов в культуру *in vitro*.

Заключение

На основании четырехлетнего изучения результатов введения в культуру *in vitro* 30 образцов смородины черной из полевой коллекции ВИР получены следующие данные.

Показана достоверная сопряженность результата введения образцов в культуру *in vitro* с факторами «месяц» и «год» отбора эксплантов и «генотип образца». Доля инфицированных эксплантов была ниже, а доля жизнеспособных – выше, в случае отбора почек в июне по сравнению со взятыми в последующие летние месяцы. Наиболее успешные результаты были получены при отборе эксплантов в 2019 и 2022 годах. Продолжительность периода от начала вегетации растений в полевой коллекции до даты отбора почек также оказывала существенное

влияние на результат введения образца в культуру *in vitro*.

Выявлены метеорологические факторы, влияющие на результативность введения образцов смородины черной в культуру *in vitro*. К ним относятся: температура и влажность воздуха в день отбора почек; влажность воздуха в среднем за декаду перед взятием эксплантов; продолжительность вегетационного периода растений от начала вегетации до даты отбора почек, а также доля жизнеспособных эксплантов на начальном этапе культивирования.

References/Литература

- Arora K., Sharma M., Srivastava J., Ranade S.A., Sharma A.K. Rapid *in vitro* cloning of a 40-year-old tree of *Azadirachta indica* A. Juss. (Neem) employing nodal stem segments. *Agroforestry Systems*. 2010;78:53-63. DOI: 10.1007/s10457-009-9230-1
- Dunaeva S.E., Pendinen G.I., Antonova O.Yu., Shvachko N.A., Ukhatova Y.V., Shuvalova L.E., Volkova N.N., Gavrilenko T.A. Preservation of Vegetatively Propagated Crops in *in vitro* and Cryo Collections: Methodological Guidelines. (Sokhraneniye vegetativno razmnzhayemykh kultur v *in vitro* i krio kollektsiyakh: metodicheskiye ukazaniya) T.A. Gavrilenko (ed.). 2nd ed. St. Petersburg: VIR; 2017. [in Russian] (Дунаева С.Е., Пендинен Г.И., Антонова О.Ю., Швачко Н.А., Ухатова Ю.В., Шувалова Л.Е., Волкова Н.Н., Гавриленко Т.А. Сохранение вегетативно размножаемых культур в *in vitro* и крио коллекциях: методические указания / под ред. Т.А. Гавриленко. 2-е изд. Санкт-Петербург: ВИР; 2017).
- Dunaeva S.E., Orlova S.Yu., Tikhonova O.A., Gavrilenko T.A. *In vitro* collection of berry and fruit crops and their wild relatives at VIR. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2018;1(1):43-51. [in Russian] (Дунаева С.Е., Орлова С.Ю., Тихонова О.А., Гавриленко Т.А. Образцы ягодных и плодовых культур и их дикорастущих родичей в коллекции *in vitro* ВИР. *Биотехнология и селекция растений*. 2018;1(1):43-51). DOI: 10.30901/2658-6266-2018-1-43-51
- Genesys. Available from: <https://www.genesys-pgr.org/a/overview/v2aKq7O7Vl4> [accessed Aug. 22, 2024].
- Guseva K.Yu. Clonal micropropagation of black currant (*Ribes nigrum* L.) *Problems of Botany of Southern Siberia and Mongolia*. 2020;19(2):5-10. [in Russian] (Гусева К.Ю. Клональное микроразмножение смородины черной (*Ribes nigrum* L.). *Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии*. 2020;19(2):5-10). DOI: 10.14258/pbssm.2020064
- Hsia C.N., Korman S.S. Factors affecting *in vitro* establishment and shoot proliferation of *Rosa hybrida* L. and *Rosa chinensis minima*. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 1996;32(4):217-222. DOI: 10.1007/bf02822690
- Ishmuratova M.M., Golovina L.A. Reproduction of black currant varieties (*Ribes nigrum*) of Bashkir breeding in *in vitro* culture (Razmnzheniye sortov smorodiny chernoy (*Ribes nigrum*) Bashkirskoy seleksii v kul'ture *in vitro*). *Bulletin of Udmurt University*. 2017;24(4):455-461. [in Russian] (Ишмуратова М.М., Головина Л.А. Размножение сортов смородины черной (*Ribes nigrum*) Башкирской селекции в культуре *in vitro*. *Вестник Удмуртского университета*. 2017;24(4):455-461).
- Jenderek M.M., Yeater K.M., Ambruzs B.D., Bushakra J., Hummer K.E. Cryopreservation of various *Ribes* species by dormant winter buds. *Scientia Horticulturae*. 2021;289(6):10496. DOI: 10.1016/j.scienta.2021.110496
- Khromova T.M., Matsneva O.V. Optimization of berry crop genotype regeneration systems at the *in vitro* crop initiation stage. *BIO Web of Conferences*. 2022;47:4004. DOI: 10.1051/bioconf/20224704004
- Khromova T.M., Tashmatova L.V., Matsneva O.V., Shakhov V.V. Influence of climatic conditions of the introduction period and varietal characteristics of black currant (*Ribes nigrum* L.) on the effectiveness of culture initiation *in vitro*. International Scientific and Practical Conference "Fundamental Scientific Research and Their Applied Aspects in Biotechnology and Agriculture" (FSRAABA). *BIO Web of Conferences*. 2021;36:04010. DOI: 10.1051/bioconf/20213604010
- Knyazev S.D., Levgerova N.S., Makarkina M.A., Pikunova A.V., Salina E.S., Chekalin E.I., Yanchuk T.V., Shavyrkina M.A. Black Currant Breeding. Methods, Achievements, Directions. Orel: VNIISPK; 2016. (Seleksiya chernoy smorodiny. Metody, dostizheniya, napravleniya. Orel: VNIISPK; 2016. [in Russian] (Князев С.Д., Левгерова Н.С., Макаркина М.А., Пикунова А.В., Салина Е.С., Чекалин Е.И., Янчук Т.В., Шавыркина М.А. Селекция черной смородины. Методы, достижения, направления. Оrel: ВНИИСПК; 2016).
- Kovaleva I.S., Matsneva A.E., Khanbabaeva O.E., Mazaeva A.S. Introduction into *in vitro* culture and clonal micropropagation of promising black currant seedling (*Ribes nigrum* L.). (Vvedeniye v kul'turu *in vitro* i klonal'noe mikrorazmnzheniye perspektivnogo seyantsa smorodiny chernoy (*Ribes nigrum* L.). *Bulletin of KrasSAU*. 2019;12:43-48. [in Russian] (Ковалева И.С., Мацнева А.Е., Ханбабаева О.Е., Мазаева А.С. Введение в культуру *in vitro* и клональное микроразмножение перспективного сеянца смородины черной (*Ribes nigrum* L.). *Вестник Красноярского государственного аграрного университета*. 2019;12:43-48). DOI: 10.36718/1819-4036
- Kukharchik N.V., Kastritskaya M.S., Semenas S.E., Kolbanova E.V., Krasinskaya T.A., Volosevich N.N., Solovey O.V., Zmushko A.A., Bozhidai T.N., Rundya A.P., Malinovskaya A.M. Propagation of fruit and berry plants in *in vitro* culture. In N.V. Kukharchik (Ed.). Minsk: Belarusian Science; 2016. [in Russian] (Кухарчик Н.В., Кастритская М.С., Семенов С.Э., Колбанова Е.В., Красинская Т.А., Волосевич Н.Н., Соловей О.В., Змушко А.А., Божидай Т.Н., Рундя А.П., Малиновская А.М. Размножение плодовых и ягодных растений в культуре *in vitro* / под ред. Н.В. Кухарчик. Минск: Беларуская навука; 2016).
- Lebedev A.A., Skovorodnikov D.N. Optimization of conditions for clonal micropropagation of *Ribes nigrum* L. (*Grossulariaceae*) (Optimizatsiya usloviy klonal'nogo mikrorazmnzheniya *Ribes nigrum* L. (*Grossulariaceae*). *Bulletin of Bryansk Department of Russian Botanical Society*. 2016;1(7):61-64. [in Russian] (Лебедев А.А., Сквородников Д.Н. Оптимизация условий клонального микроразмножения *Ribes nigrum* L. (*Grossulariaceae*). *Бюллетень Брянского отделения Русского ботанического общества*. 2016;1(7):61-64).
- Lyashenko S., González-Fernández M.J., Gómez-Mercado F., Yunusova S., Denisenko O., Guil-Guerrero J.L. *Ribes* taxa: a promising source of γ -linolenic acid-rich functional oils. *Food Chemistry*. 2019;301:25-309. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125309
- Matushkin S.A. Influence of genotype on rhizogenesis of currant varieties *in vitro*. (Vliyanie genotipa na rizogenez sortov smorodiny *in vitro*). *Seleksiya i sortorazvedeniye sadovykh kul'tur = Selection and Variety Breeding of Horticultural Crops*. 2019;6(1):72-73. [in Russian] (Матушкин С.А. Влияние генотипа на ризогенез сортов смородины *in vitro*. *Селекция и сорторазведение садовых культур*. 2019;6(1):72-73).
- Matushkin S.A. The influence of growth regulators on the elongation of microshoots of black currant varieties. (Vliyanie regulatorov rosta na udlineniye mikropobegov sortov smorodiny chyornoy). *Seleksiya i sortorazvedeniye sadovykh kul'tur = Selection and Variety Breeding of Horticultural Crops*. 2020;7(1-2):105-108. [in Russian] (Матушкин С.А. Влияние регуляторов роста на удлинение микропобегов сортов смородины чёрной. *Селекция и сорторазведение садовых культур*. 2020;7(1-2):105-108). DOI: 10.24411/2500-0454-2020-11227
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15:473-497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- Nobre J., Santos C., Romano A. Micropropagation of the Mediterranean species *Viburnum tinus*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 2000;60:75-78. DOI: 10.1023/A:1006405700121
- Ogoltsova T.P. Black Currant Breeding: Past, Present, and Future (*Seleksiya chernoy smorodiny – proshloye, nastoyashcheye, budushcheye*). Tula; 1992. [in Russian] (Огольцова Т.П. Селекция черной смородины – прошлое, настоящее, будущее.

- Тула; 1992).
- Orazbaeva G.K., Khasanov V.T., Isakov A.R., Shvidchenko V.K. Clonal propagation of black currant plants (*Ribes nigrum* L.) *in vitro* (Klonalnoye razmnozheniye rastenii chernoy smorodiny *Ribes nigrum* L. *in vitro*). *Herald of Science of S. Seifullin Kazakh Agrotechnical University*. 2012;1(72):115-124. [in Russian] (Оразбаева Г.К., Хасанов В.Т., Исаков А.Р., Швидченко В.К. Клональное размножение растений черной смородины (*Ribes nigrum* L.) *in vitro*. *Вестник науки КазАТУ им. С. Сейфуллина*. 2012;1(72):115-124).
- Samorodova-Bianki G.B., Streltsina S.A., Zdorenko N.A. Fruits and berries as valuable source of substances improving resistance in the organism of a man to extreme conditions. *Research Bulletin of the All-Russian N.I. Vavilov Institute of Plant Industry*. 1992;229:65-68. [in Russian] (Самородова-Бианки Г.Б., Стрельцина С.А., Здоренко Н.А. Плоды и ягоды как ценный источник веществ, повышающих устойчивость организма человека к экстремальным факторам. *Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института растениеводства им. Н.И. Вавилова*. 1992;229:65-68).
- Shakhov V.V., Tashmatova L.V., Matsneva O.V. Comparative characteristics of the timing of introduction of black currant (*Ribes nigrum* L.) explants into *in vitro* culture (Sravnitel'naya kharakteristika srokov vvedeniya eksplantov chernoy smorodiny (*Ribes nigrum* L.) v kul'turu *in vitro*). *Sovremennoe sadovodstvo = Contemporary Horticulture*. 2017;4:102-105. [in Russian] (Шахов В.В., Ташматова Л.В., Мацнева О.В. Сравнительная характеристика сроков введения эксплантов черной смородины (*Ribes nigrum* L.) в культуру *in vitro*. *Современное садоводство*. 2017;4(24):102-105). DOI: 10.24411/2218-5275-2017-00039
- Sedov E.N. (ed.). Pomology. Vol. 4. Currant. Gooseberry (Pomologiya. T. IV. Smorodina. Kryzhovnik). O.D. Golyaeva (vol. ed.). Orel: VNIISPB Publisher; 2009. [in Russian] (Помология. Т. 4. Смородина. Крыжовник / ред. Е.Н. Седов; ред. т. О.Д. Голяева. Оrel: Изд-во ВНИИСПК; 2009).
- Skovorodnikov N.A., Sazonov F.F., Lebedev A.A. Effect of genotype of the black currant on the efficiency of propagation in culture *in vitro*. *Vestnik OrelGAU*. 2013;(2):58-61.
- Sokolov S.Ya., Zamotaev I.P. Handbook of Medicinal Plants (Spravochnik po lekarstvennym rasteniyam). Moscow; 1988. [in Russian] (Соколов С.Я., Замотаев И.П. Справочник по лекарственным растениям. Москва; 1988).
- Sorokopudov V., Knyazeva I. Preserving sanitized plants of black currant in order to create genetic banks. *Subtropical and Ornamental Horticulture*. 2018;65:87-92. [in Russian] (Сорокопудов В.Н., Князева И.В. Сохранение оздоровленных растений смородины черной для создания генетических банков. *Субтропическое и декоративное садоводство*. 2018;65:87-92). DOI: 10.31360/2225-3068-2018-65-87-92
- State Register for Selection Achievements Admitted for Usage (National List). Vol. 1. "Plant varieties" (official publication). Moscow: Ministry of Agriculture of Russia; Gosortkomissiya; 2024. [in Russian] (Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1. «Сорта растений» (официальное издание). Москва: Министерство сельского хозяйства России; Госорткомиссия; 2024).
- Sun Q., Wang N., Xu W., Zhou H. Genus *Ribes* Linn. (*Grossulariaceae*): A comprehensive review of traditional uses, phytochemistry, pharmacology and clinical applications. *Journal of Ethnopharmacology*. 2021;276:114-166. DOI: 10.1016/j.jep.2021.114166
- Tikhonova O.A., Shelenga T.V., Streltsina S.A. Biochemical composition of black currant berries in the Russian North-West. *Breeding and Variety Cultivation of Fruit and Berry Crops: Materials of the International Scientific and Practical Conference dedicated to the 170th Anniversary of VNIISPК; 2015 June 02-05; Orel, Russia*. Orel; 2015. Vol. 2. p.203-206. [in Russian] (Тихонова О.А., Шеленга Т.В., Стрельцина С.А. Биохимический состав ягод черной смородины на Северо-Западе России. *Селекция и сортоведение садовых культур: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 170-летию ВНИИСПК; 02-05 июня 2015 г.; Оrel, Россия*. Оrel; 2015. Т. 2. С.203-206).
- Vershina O.V., Byadovsky I.A. Peculiarities of the development of explants *Rubus idaeus* L. and *Ribes nigrum* L. promising varieties of breeding of Federal Research Center for Horticulture at the stage of introduction to culture *in vitro*. *Pomiculture and Small Fruits Culture in Russia*. 2020;63(1):44-52. [in Russian] (Вершинина О.В., Бьядовский И.А. Особенности развития эксплантов *Rubus idaeus* L. и *Ribes nigrum* L. перспективных сортов селекции ФГБНУ ФНЦ садоводства на этапе введения в культуру *in vitro*. *Плодоводство и ягодоводство России*. 2020;63(1):44-52). DOI: 10.31676/2073-4948-2020-63-44-52
- Vitkovsky V.L. Fruit Plants of the World. St. Petersburg; Moscow; Krasnodar: Lan; 2003. [in Russian] (Витковский В.Л. Плодовые растения мира. Санкт-Петербург; Москва; Краснодар: Лань; 2003).
- Vujović T., Ruzic D., Cerović R. Improvement of *in vitro* micropropagation of black currant Čačanska Crna. *Acta Horticulturae*. 2012;946:123-128. DOI: 10.17660/ActaHortic.2012.946.17

Информация об авторах

Светлана Ефимовна Дунаева, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, dunaevase@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7002-8066>

Ольга Анатольевна Тихонова, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, отдел генетических ресурсов плодовых культур, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, o.tikhonova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0319-1477>

Леонид Леонидович Малышев, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, отдел овса, ржи, ячменя, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, l.malyshhev@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8595-1336>

Татьяна Андреевна Гавриленко, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, tatjana9972@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2605-6569>

Information about the authors

Svetlana E. Dunaeva, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Biotechnology Department, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, dunaevase@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7002-8066>

Olga A. Tikhonova, Cand. Sci. (Agriculture), Leading Researcher, Department of Fruit Crop Genetic Resources, N.I. Vavilov All-Russian Institute

of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, o.tikhonova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0319-1477>

Leonid L. Malyshev, Cand. Sci. (Agriculture), Leading Researcher, Department of Oats, Rye, Barley, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, l.malyshev@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8595-1336>

Tatjana A. Gavrilenko, Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher, Biotechnology Department, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, tatjana9972@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2605-6569>

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 05.08.2024; одобрена после рецензирования 14.10.2024; принята к публикации 30.11.2024.

The article was submitted on 05.08.2024; approved after reviewing on 14.10.2024; accepted for publication on 30.11.2024.

Краткое сообщение

УДК 575.1:575.2:561:631.5

DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-07



ПЦР-тест для установления принадлежности разрушенных остатков карбонизированных семян к роду *Hordeum* L.

Т. В. Семилет, Л. Ю. Шипилина, Е. К. Хлесткина, Н. А. Швачко

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

Автор, ответственный за переписку: Семилет Татьяна Вячеславовна, t.semilet@vir.nw.ru

Археологи во время раскопок исторических памятников находят разнообразные артефакты, свидетельствующие о жизни и быте наших далеких предков. Особое внимание уделяется останкам живых организмов. Они свидетельствуют не только о хозяйственной деятельности древних земледельцев, но и помогают выявлять филогенетические взаимоотношения и процессы доместикации в мировых центрах разнообразия. Зачастую из-за длительного нахождения палеообъектов в условиях, не способствующих их сохранности, они разрушаются и становится невозможным определить их видовую принадлежность. Поэтому археологи все чаще прибегают к помощи палеогенетиков. В России известны работы по изучению древней ДНК (дДНК) из останков человека и животных. Однако, палеогенетические исследования ископаемых остатков растений, таких как пыльца, семена, древесина, немногочисленны. На территории Усвяцкого городища (Псковская область) в 2019 году были найдены карбонизированные зерновки зерновых культур. Находка датируется XII веком. В результате морфологического анализа смеси семян были обнаружены зерновки, степень разрушенности которых не позволяет определить видовую принадлежность по анализу микрорельефа. Поэтому целью данного исследования послужила разработка таксон-специфичных праймеров, дающих короткий продукт амплификации, для анализа фрагментированной дДНК разрушенных зерновок ячменя. В результате был разработан ПЦР-тест HORDEL, который рекомендуется к использованию при идентификации растительных остатков (карбонизированных семян), принадлежащих роду *Hordeum* L.

Ключевые слова: *Elf3*, *Hordeum*, Усвяты, древняя ДНК, палеогенетика

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания ВИР согласно тематическому плану НИР по теме FGEM-2024-0002 «Исследование растительных биоресурсов в пространственном и временном аспекте с применением современных цифровых и генетических технологий».

Для цитирования: Семилет Т.В., Шипилина Л.Ю., Хлесткина Е.К., Швачко Н.А. ПЦР-тест для установления принадлежности разрушенных остатков карбонизированных семян к роду *Hordeum* L. *Биотехнология и селекция растений*. 2024;7(4):105-113. DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-07

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

© Семилет Т.В., Шипилина Л.Ю., Хлесткина Е.К., Швачко Н.А., 2024

Brief communication

DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-07

PCR test to determine whether the destroyed remains of carbonized seeds belong to the genus *Hordeum* L.

Tatiana V. Semilet, Liliya Yu. Shipilina, Elena K. Khlestkina, Natalia A. Shvachko

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

Corresponding author: Tatiana V. Semilet, t.semilet@vir.nw.ru

During excavations of historical monuments, archaeologists find various artifacts that testify to the existence and everyday life of our distant ancestors. Particular attention is paid to the remains of living organisms. They not only provide evidence of the economic activity of ancient farmers, but also help to identify phylogenetic relationships and domestication processes in the world's centers of diversity. Due to the long-term presence of paleontological objects in the environment that is not conducive to preservation, they often get destroyed and it becomes impossible to determine which species they belong to. Therefore, archaeologists increasingly resort to the help of paleogeneticists. The works on studies of ancient DNA (aDNA) from human and animal remains are known in Russia. However, paleogenetic studies of fossil plant remains such as pollen, seeds, and timber are few. In 2019, carbonized grains of cereal crops were found on the territory of the Usvyaty settlement in Pskov Region. The findings date back to the 12th century. The morphological analysis of the seed mixture resulted in finding grains, the degree of destruction of which prevented determination of the species they belong to by analyzing their microrelief. Therefore, the aim of this study was to develop taxon-specific primers that yield a short amplification product for the analysis of fragmented aDNA from the destroyed barley caryopses. As a result, a PCR test named HORDEL F was developed, which is recommended for the identification of plant residues (carbonized seeds) belonging to the genus *Hordeum* L.

Keywords: *Elf3*, *Hordeum*, Usvyaty, ancient DNA, paleogenetics

Acknowledgements: The work was carried out within the framework of the State Assignment of VIR in accordance with the thematic plan of research on the topic FGEM-2024-0002 «Study of plant bioresources in spatial and temporal aspects using modern digital and genetic technologies»

For citation: Semilet T.V., Shipilina L.Yu., Khlestkina E.K., Shvachko N.A. PCR test to determine whether the destroyed remains of carbonized seeds belong to the genus *Hordeum* L. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2024;7(4):105-113. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2024-4-07

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.

© Semilet T.V., Shipilina L.Yu., Khlestkina E.K., Shvachko N.A., 2024

Введение

Исследователи во время археологических раскопок находят растительные остатки (пыльцу, семена, древесину) разной степени целостности. При хорошей сохранности внешней структуры возможно проанализировать внешний облик – форму, поверхность, цвет, и установить родовую и, редко, видовую принадлежность древних растений (Bouby, 2001). Много трудностей возникает при идентификации фрагментированного материала. Фрагментированный материал сложно изучать с применением морфологических методов из-за поверхностного повреждения и размытости видоспецифических признаков растений (Jacomet, 2006). В связи с этим, наряду с идентификацией по морфологическим признакам, сегодня для исследования археологических находок растительного происхождения все чаще применяют методы молекулярной генетики (Pollmann et al., 2005; Fernandez et al., 2013; Bilgic et al., 2016; Semilet et al., 2023). Раскопки исторических памятников активно ведутся за рубежом, на территории Плодородного полумесяца, и в ряде других очагов мирового земледелия (Helback, 1959; Charles, Vogaard, 2011; Lister et al., 2013; Riehl et al., 2014). Распространение культурных растений в ранние века и историю земледелия в северных широтах до настоящего времени исследовали лишь при помощи методов идентификации, основанных на изучении морфологических признаков найденных растительных остатков. Анализ древней ДНК растений, найденных на территории России, не получил своего распространения, однако все новые археологические находки представляют интерес для комплексных исследований.

При работе с древней ДНК растений необходимо учитывать качество материала и подбирать методы исследования. Качество экстрагированного генетического материала зависит прежде всего от условий, из которых были изъяты образцы. На основании современных археологических находок ученые отмечают, что семена сохраняются при высушивании, заболачивании, полном или частичном обугливание, при этом семена «консервируются» в результате пожаров природного или антропогенного происхождения, и минерализации, а точнее кальцификации (Fernandez et al., 2013; Wales, Kistler, 2019).

При помощи сравнительного анализа данных о геноме разных таксонов растений осуществляют поиск таксон-специфичных участков генома – от различий в одну пн (Khlestkina et al., 2009; Benito et al., 2010) до крупных делеций/ инсерций (Wang et al., 2005; Khlestkina, Shoeva, 2014). Такие подходы к идентификации растительного материала, основанные на удобных методах лабораторного анализа, применяют при изучении отдаленных гибридов и интрогрессивных линий. Например, Адонина и соавторы (Adonina et al., 2011) для уточнения хромосомного состава генома гибридных растений, полученных от пшеницы и ржи, применяли в качестве таксон-специфичных маркеров микросателлиты и маркеры, разрабо-

танные на основе нуклеотидных последовательностей генов. Удобными маркерами для дифференциации геномного материала в гибридах зерновых культур считаются микросателлитные маркеры (Khlestkina et al., 2004; Benito et al., 2010). Для идентификации родов и видов наиболее широко используют методы ДНК-штрихкодирования (Kress, Erickson, 2012; Li et al., 2015; Grazina et al., 2020; Antil et al., 2023).

Однако методы, разработанные для анализа свежего материала или высушенных растительных остатков, далеко не всегда подходят для изучения разрушенной древней ДНК (дДНК) из карбонизированного материала (Wales et al., 2014).

В последние годы для анализа дДНК, в том числе сильно фрагментированной, широко применяют методы NGS (англ. New Generation Sequencing). Однако только для цели уточнения таксономической принадлежности поврежденных остатков карбонизированных семян из скоплений, которые содержат заведомо узкий перечень искомым таксонов, применение NGS с последующим анализом будет более трудоемким и избыточным. В этих случаях наиболее удобным подходом было бы ПЦР-тестирование. Разработка такого подхода требует наличия праймеров для получения коротких продуктов амплификации с учетом того, что ДНК-матрица фрагментирована (Bunning et al., 2012; Pérez-Escobar et al., 2022).

В данном исследовании показана возможность использования ПЦР-теста для идентификации разрушенных зерновок XII века, предположительно являющихся ячменем. В качестве референса и разработки тест-системы был выбран ген *Elf3*, расположенный на хромосоме 1Н (Hemming et al., 2012; Boden et al., 2014; Deng et al., 2015; Huang et al., 2017). На сегодняшний день хорошо изучена роль *Elf3* в формировании ответа на длину светового дня у ячменя и переходом к раннему колошению. Ген кодирует локализованный в ядре белок ELF3-like protein 2, важный для восприятия продолжительности светового периода и регуляции экспрессии генов циркадных ритмов (Boden et al., 2014). *Elf3* (HORVU. MOREX. r3.1HG0095050) состоит из четырех экзонов и трех интронов общей длиной 4417 (Phytozome 13, 2024). На основании известных данных о строении гена, аллельных вариантов, связанных с формированием ответа на длину светового дня и консервативных участков, встречающихся у разных форм растений рода *Hordeum*, *Elf3* был выбран в качестве тест-системы (Faure et al., 2012; Zakhrebekova et al., 2012; Boden et al., 2014; Hill et al., 2016) (рис.1).

Поэтому целью данного исследования является разработка подхода для молекулярно-генетической идентификации карбонизированных остатков ячменя среди ископаемых растительных материалов, степень разрушенности которых не позволяет определить видовую принадлежность по анализу микрорельефа зерновок.

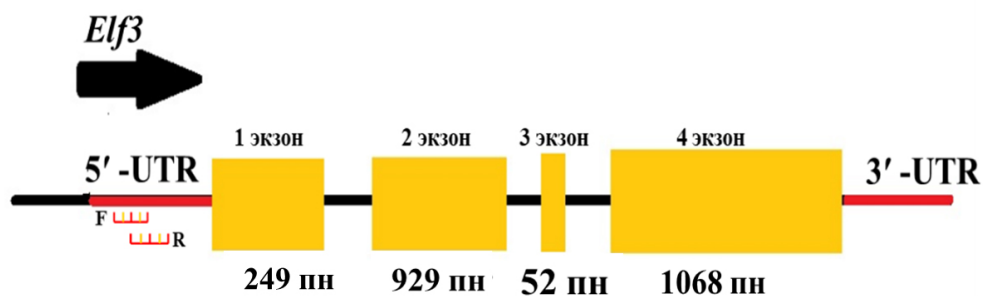


Рис. 1. Схема гена *Eif3* *Hordeum vulgare*
5'-UTR и 3'-UTR – нетранслируемые области; F – прямой праймер;
R – обратный праймер тест-системы HORDEL F

Fig. 1. Diagram of *Eif3* gene of *Hordeum vulgare*
5'-UTR and 3'-UTR – untranslated regions; F – forward primer;
R – reverse primer of the HORDEL F test system

Материалы и методы

Объектами исследования послужили карбонизированные зерновки XII века, найденные в 2019 году при раскопке Усвятского городища (Псковская область). Выделение древней ДНК (дДНК) осуществляли из пула семян (в каждую пробирку помещали три зерновки). Для сравнения в исследование включена выборка современных образцов зерновых и зернобобовых растений из мировой коллекции ВИР: *Pisum sativum* L. (к-6933), *Triticum aestivum* L. (к-37178), *Avena sativa* L. (к-14516), *Secale cereale* L., *Hordeum spontaneum* (K. Koch) Thell. (w-610), *Hordeum vulgare* L. (к-27605).

Методы исследования. Молекулярно-генетические исследования осуществляли в одном из лабораторных помещений ВИР – изолированном боксе для работы с дДНК, оснащённом УФ-лампами, в котором были соблюдены все условия, исключающие контаминацию современным генетическим материалом. Выделение дДНК осуществляли с помощью набора DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, Германия). В протокол внесены некоторые модификации: инкубация в морозильной камере (–23°C) до 2 часов, уменьшение объема буфера для промывки ДНК на колонке (400 мкл, вместо 500 мкл), один этап элюции ДНК. Концентрацию ДНК измеряли спектрофотометрическим методом на приборе NanoPhotometer NanoDrop (IMPLEN, Германия). Для повышения количества ДНК была проведена рефрагментация с последующей амплификацией дДНК с использованием набора Sigma-Aldrich GenomePlex Complete Whole Genome Amplification (WGA kit, Великобритания). Коммерческий набор для обогащения включает реактивы (ферменты) и универсальные олигонуклеотидные праймеры, позволяющие достроить ДНК по принципу ком-

плементарности и накопить пул фрагментов для использования обогащенной ДНК в последующем анализе, в том числе для повышения точности сборки исследуемых областей генома.

Анализ последовательности генов осуществляли в публичных базах данных нуклеотидных последовательностей (GeneBank NCBI, 2024; Phytozome13, 2024). На основе найденных последовательностей сконструированы праймеры для ПЦР-тестирования в программе Oligo Primer Analysis Software v. 6.71 (Offerman, 2003).

При создании праймеров учитывали следующие условия:

- специфичность ПЦР-теста должна быть подтверждена на генетическом материале современных растений;
- продукт отжига не должен превышать размер в 300 пн. Работа с короткими фрагментами обусловлена повреждением структуры, характерным для дДНК.

Данные условия необходимо выполнять для последующего использования праймеров при постановке ПЦР с дДНК и секвенирования по методу Сенгера.

Амплификацию дДНК проводили по протоколу ступенчатой ПЦР. Реакционная смесь объемом 20 мкл содержала 200 нг матричной ДНК после рефрагментации; 2,5 mM dNTP; 1× ПЦР-буфер – 67 mM TrisHCl, pH=8,8, 10 mM dNTPs, 0,01% Твин-20; 12 mM MgCl₂; 5 ед/мкл Taq-Polymerase; по 1 мкМ прямого и обратного праймеров. Протокол ступенчатой ПЦР включал следующие стадии: денатурация в течение 2 мин при 94°C; 13 циклов, состоящих из денатурации 15 с при 94°C, отжига 30 с при 65°C (со снижением температуры на 0,7°C/цикл) и полимеризации 45 с при 72°C; 24 цикла, состоящие из денатурации 15 с при 94°C, отжига 30 с при 56°C, полимеризации 45 с при 72°C и финальной элонгации 10 мин при 72°C. Продукты ПЦР разделяли в 1,5% горизонтальном агарозном геле, который был окрашен бромидом этидия. Результат анализировали в ультрафиолетовом свете с использова-

нием системы гель-документирования Gel Doc XR⁺ (BioRad, США) (Semilet et al., 2023).

Результаты и обсуждение

На первом этапе в результате BLAST анализа у ячменя в базе данных Phytozome13 были найдены консервативные последовательности *Elf3* HORVU. MOREX. r3.1HG0095050 в положениях 33-53 пн и 303-320 пн и разработан ПЦР-тест HORDEL F с праймерами, дающими

короткий продукт амплификации. Также с помощью данного алгоритма был проведен локальный поиск участков гомологов гена *Elf3* у разных зерновых (рожь, пшеница, овес), зернобобовых культур (горох), который показал отсутствие идентичных фрагментов (рис. 2).

Тест-система позволяет с высокой вероятностью определять принадлежность растительного материала к роду *Hordeum*. Последовательности праймеров, температуры отжига и размер продукта ПЦР приведены в таблице.



Рис. 2. Выравнивание гомологов гена *Elf3* у зерновых
Красными рамками обозначены последовательности праймеров

Fig. 2. Alignment of homologs of *Elf3* gene in cereals
Primer sequences are framed in red

Таблица. Праймеры, использованные для определения принадлежности образца к роду *Hordeum*
Table. Primers used to identify the sample as belonging to the genus *Hordeum*

Название/ Marker name	Прямой праймер/ Forward primer sequence (5'→ 3')	t°C	Обратный праймер/ Reverse primer sequence (5'→ 3')	t°C	Продукт, пн/ fragment size, bp
HORDEL F	CACCAGAGACACAGACCCTT	56,5	GCCATGCTCACTCACTCA	54,9	288

Перед амплификацией осуществляли проверку концентрации ДНК на спектрофотометре Nanodrop. До рефрагментации концентрация дДНК варьировала в диапазонах от 1,45±0,0145 (нг/мкл) до 2,0±0,02 (нг/мкл). После обогащения качество препаратов повышалось, и концентрация ДНК в среднем составила 200,8±2,01 (нг/мкл). Для проверки работы ПЦР-теста были взяты современные об-

разцы зерновых и зернобобовых культур из коллекции ВИР: *Pisum sativum*, *Triticum aestivum*, *Avena sativa*, *Secale cereale*, *Hordeum spontaneum*, *Hordeum vulgare* (рис. 3). Постановка ПЦР с парами праймеров к гену *Elf3* подтвердила специфичность амплификации у образцов рода *Hordeum*.

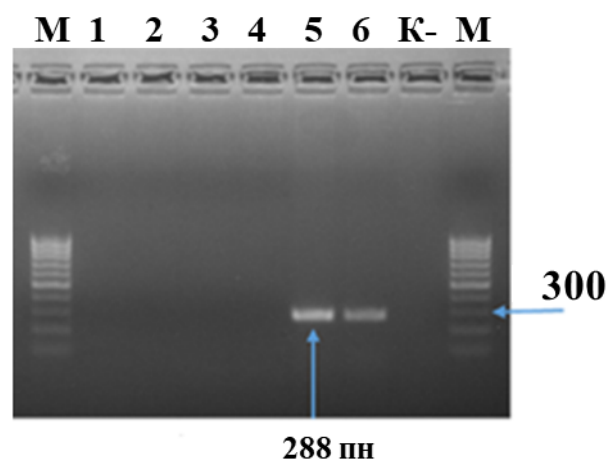


Рис. 3. Электрофореграмма продуктов амплификации современных образцов ДНК зерновых и зернобобовых культур с геном *Eif3* по результатам ПЦР-теста HORDELf

Fig. 3. Electropherogram of amplification products of modern DNA samples from cereal and leguminous crops with *Eif3* gene based on the results of the PCR test HORDELf

1 – *Pisum sativum*; 2 – *Triticum aestivum*; 3 – *Avena sativa*; 4 – *Secale cereale*; 5 – *Hordeum vulgare*; 6 – *H. spontaneum*; М – Маркер молекулярного веса st100; К – отрицательный контроль/ М – Molecular weight marker st100; К – negative control.

На следующем этапе ПЦР-тест с полученными праймерами HORDELf применялся для определения принад-

лежности разрушенных карбонизированных остатков к роду *Hordeum* L. (рис. 4).

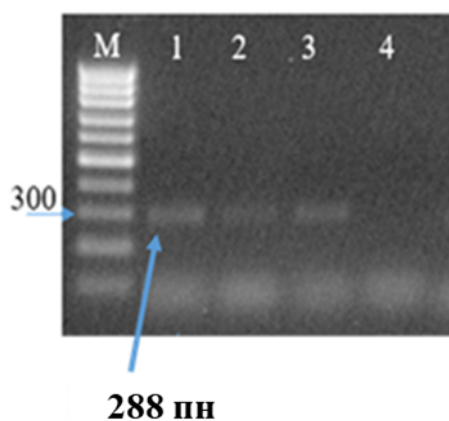


Рис. 4. Электрофореграмма продуктов амплификации дДНК из остатков семян с геном *Eif3* (ПЦР-тест HORDELf)

1-3 – образцы древней ДНК, 4 – отрицательный контроль, М – маркер молекулярного веса St100

Fig. 4. Electropherogram of amplified DNA products from remains of seeds with *Eif3* gene (PCR test HORDELf)

1-3 – ancient DNA samples, 4 – negative control, М – molecular weight marker St100

При работе с дДНК особое внимание уделяют высоко вариативным участкам с короткими tandemными повторами – STR – и с наличием однонуклеотидного полиморфизма – SNP (Schubert et al., 2014). При секвенировании и сравнении этих участков возможно не только выявить генетическое сходство с современными организмами, но и определить внешний облик образца, найденного в регионе проведения археологических раскопок, и предположить его происхождение, (Pérez-Escobar et al., 2022; Richards et al., 2022; Sadler et al., 2023; Vallebuena-Estrada et al., 2023; Pavlik et al., 2024). Однако, эти маркеры не всегда возможно применить к сильно разрушенным, фрагментированным находкам. Современные методы секвенирования – NGS – и ДНК-штрихкодирования достаточно затратны, требуют много времени для проведения анализа и не всегда оправданы при небольшом количестве материала.

Для более оперативного определения таксономической принадлежности поврежденных карбонизированных образцов можно разработать и применять ПЦР-тесты. В данной работе показана возможность проведения молекулярно-генетических исследований разрушенных от времени зерновок. ПЦР-тест HORDELF, применённый к фрагменту гена *Elf3*, доказал свою эффективность на выборке современных образцов культурных растений из коллекции ВИР. Дальнейшее применение теста к древним, разрушенным зерновкам позволило определить их принадлежность к роду *Hordeum*.

Заключение

В работе показана возможность молекулярно-генетической идентификации карбонизированных остатков зерновок на основе ПЦР-теста HORDELF, специфичного для рода *Hordeum*, среди ископаемых растительных материалов, степень разрушенности которых не позволяет определить видовую принадлежность по анализу микрорельефа зерновок.

References/Литература

Adonina I.G., Orlovskaya O.A., Tereshchenko O.Yu., Korenb L.V., Khotyleva L.V., Shumnyaya V.K., Salina E.A. Development of commercially valuable traits in hexaploid *Triticale* lines with *Aegilops* introgressions as dependent on the genome composition. *Russian Journal of Genetics*. 2011;47(4):453-461. DOI: 10.1134/S1022795411040028

Antil S., Abraham J.S., Sripoorna S., Maurya S., Dagar J., Makhija S., Bhagat P., Gupta R., Sood U., Lal R., Toteja R. DNA barcoding, an effective tool for species identification: a review. *Molecular Biology Reports*. 2023;50(1):761-775. DOI: 10.1007/s11033-022-08015-7

Benito C., Silva-Navas J., Fontecha G., Hernandez-Riquer M.V., Eguren M., Salvador N., Gallego F.J. From the rye *Alt3* and *Alt4* aluminum tolerance loci to orthologous genes in other cereals. *Plant Soil*. 2010;327:107-120.

Bilgic H., Hakki E.E., Pandey A., Khan M.K., Akkaya M.S. Ancient DNA from 8400 year-old Çatalhöyük wheat: implications for the origin of neolithic agriculture. *PLOS ONE*. 2016;11(3):e0151974. DOI: 10.1371/journal.pone.0151974

Boden S.A., Weiss D., Ross J.J., Davies N.W., Trevaskis B.,

Chandler P.M., Swain S.M. *EARLY FLOWERING 3* regulates flowering in spring barley by mediating gibberellin production and *FLOWERING LOCUS T* expression. *The Plant Cell*. 2014;26(4):1557-1569. DOI: 10.1105/tpc.114.123794

Bouby L. Lorge à deux range (*Hordeum distichum*) dans l'agriculture Gallo-Romaine: données archéobotaniques. *Revue Archéométrie*. 2001;25:35-44. [in French]

Bunning S.L., Jones G., Brown T.A. Next generation sequencing of DNA in 3300-year-old charred cereal grains. *Journal of Archaeological Science*. 2012;39(8):2780-2784. DOI: 10.1016/j.jas.2012.04.012

Charles M., Bogaard A. Charred plant macro-remains from Jeitun: implications for early cultivation and herding practices in western Central Asia. In: D.R. Harris (ed.) *Origins of agriculture in western Central Asia. An environmental-archaeological study*. Philadelphia: University of Pennsylvania Museum of Archaeology and Anthropology. 2011:150-165. DOI: 10.9783/9781934536513

Deng W., Clausen J., Boden S., Oliver S.N., Casao M.C., Ford B., Anderssen R.S., Trevaskis B. Dawn and dusk set states of the circadian oscillator in sprouting barley (*Hordeum vulgare*) seedlings. *PLoS One*. 2015;10(6):1-18. DOI: 10.1371/journal.pone.0129781

Faure S., Turner A.S., Gruszka D., Christodoulou V., Davis S.J., Korffet von M., Laurie D. Mutation at the circadian clock gene *Early maturity 8* adapts domesticated barley (*Hordeum vulgare*) to short growing seasons. *PNAS*. 2012;109(21):8328-8333. DOI: 10.1073/pnas.1120496109

Fernandez E., Thaw S. Brown T.A., Arroyo-Pardo E., Buxo R., Serret M.D., Araus J.L. DNA analysis in charred grains of naked wheat from several archaeological sites in Spain. *Journal of Archaeological Science*. 2013;40(1):659-670. DOI: 10.1016/j.jas.2012.07.014

GeneBank NCBI, National Center for Biotechnology Information; 2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/> [accessed Dec. 3, 2024].

Grazina L., Amaral J.S., Mafra I. Botanical origin authentication of dietary supplements by DNA-based approaches. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2020;19:1080-1109. DOI: 10.1111/1541-4337.12551

Helback B.H. Domestication of food plants in the old world: joint efforts by botanists and archeologists illuminate the obscure history of plant domestication. *Science*. 1959;130(3372):365-372. DOI: 10.1126/science.130.3372.365

Hemming M.N., Walford S.A., Fieg S., Dennis E.S., Trevaskis B. Identification of high-temperature-responsive genes in cereals. *Plant Physiology*. 2012;158:1439-1450. DOI: 10.1104/pp.111.192013

Hill C.B., Li C. Genetic Architecture of Flowering Phenology in Cereals and Opportunities for Crop Improvement. *Frontiers in Plant Science*. 2016;19(7):1-23. DOI: 10.3389/fpls.2016.01906

Huang H., Gehan M.A., Huss S.E., Alvarez S., Lizarraga C., Gruebbling E.L., Gierer J., Naldrett M.J., Bindbeutel R.K., Evans B.S., Mockler T.C., Nusinow D.A. Cross-species complementation reveals conserved functions for *EARLY FLOWERING 3* between monocots and dicots. *Plant Direct*. 2017;1(14). DOI: 10.1002/pld3.18

Jacomot S. Identification of cereal remains from archaeological sites. Basel: Basel University, Archaeobotany Lab IPAS; 2006.

Khlestkina E.K., Than M.H., Pestsova E.G., Röder M.S., Malyshev S.V., Korzun V., Börner A. Mapping of 99 new microsatellite-derived loci in rye (*Secale cereale* L.) including 39 expressed sequence tags. *Theoretical and Applied Genetics*. 2004;109:725-732. DOI: 10.1007/s00122-004-1659-z

Khlestkina E.K., Tereshchenko O.Y., Salina E.A. Anthocyanin biosynthesis genes location and expression in wheat-rye hybrids. *Molecular Genetics and Genomics*. 2009;282:475-485. DOI: 10.1007/s00438-009-0479-x

Khlestkina E.K., Shoeva O.Y. Intron loss in the chalcone-flavanone isomerase gene of rye. *Molecular Breeding*. 2014;33(4):953-959. DOI: 10.1007/s11032-013-0009-8

Kress W.J., Erickson D.L. DNA Barcodes Methods and Protocols. In: Kress W., Erickson D. (eds). *DNA Barcodes. Methods in Molecular Biology*. Vol 858. Humana Press, Totowa, NJ. Humana

- Press; 2012. p. 3-8. DOI: 10.1007/978-1-61779-591-6_1
- Li X., Yang Y., Henry R.J., Rossetto M., Wang Y., Chen S. Plant DNA barcoding: from gene to genome. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*. 2015;90(1):157-66. DOI: 10.1111/brv.12104
- Lister D.L., Jones H., Jones M.K., O'Sullivan D.M., Cockram J. Analysis of DNA polymorphism in ancient barley herbarium material: validation of the KASP SNP genotyping platform. *Taxon*. 2013;62(4):779-89. DOI: 10.12705/624.9
- Pavlik B.M., del Rio A., Bamberg J., Louderback L.A. Evidence for human-caused founder effect in populations of *Solanum jamesii* at archaeological sites: II. Genetic sequencing establishes ancient transport across the Southwest USA. *American Journal of Botany*. 2024;111(7):e16365. DOI: 10.1002/ajb2.16365
- Pérez-Escobar O.A., Tusso S., Przelomska N.A.S., Wu S., Ryan P., Nesbitt M., Silber M.V., Preick M., Fei Z., Hofreiter M., Chomicki G., Renner S.S., Genome sequencing of up to 6,000-year-old *Citrullus* seeds reveals use of a bitter-fleshed species prior to watermelon domestication. *Molecular Biology and Evolution*. 2022;39(8):msac168. DOI: 10.1093/molbev/msac168
- Phytozome 13, The Plant Genomic Resource; 2024. Available from: https://phytozome-next.jgi.doe.gov/report/transcript/HvulgareMorex_V3/HORVU.MOREX.r3.3HG0292270.1 [accessed Dec. 3, 2024]
- Pollmann B., Jacomet S., Schlumbaum A. Morphological and genetic studies of waterlogged *Prunus* species from the Roman *vicus Tasgetium* (Eschenz, Switzerland). *Journal of Archaeological Science*. 2005;32(10):1471-1480. DOI: 10.1016/j.jas.2005.04.002
- Richards S.M., Li L., Breen J., Hovhannisyann N., Estrada O., Gasparyan B., Gilliam M., Smith A., Cooper A., Zhang H. Recovery of chloroplast genomes from medieval millet grains excavated from the Areni-1 cave in Southern Armenia. *Scientific reports*. 2022;12(1). DOI: 10.1038/s41598-022-17931-4
- Riehl S., Pustovoytov K.E., Weippert H., Klett S., Hole F. Drought stress variability in ancient Near Eastern agricultural systems evidenced by $\delta^{13}\text{C}$ in barley grain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014;111(34):12348-12353. DOI: 10.1073/pnas.1409516111
- Sadder M., Brake M., Ayoub S., Abusini Y., Al-Amad I., Haddad N. Complete mitochondrial genome sequence of historical olive (*Olea europaea* Linnaeus 1753 subsp. *europaea*) cultivar Mehras in Jordan. *Mitochondrial DNA Part B: Resources*. 2023;8(11):1205-1208. DOI: 10.1080/23802359.2023.2275828
- Semilet T., Shvachko N., Smirnova N., Shipilina L., Khlestkina E. Using DNA markers to reconstruct the lifetime morphology of barley grains from carbonized cereal crop remains unearthed at Usvyaty Settlement. *Biological Communications*. 2023;68(1):3-9. DOI: 10.21638/spbu03.2023.101
- Schubert M., Ermini L., Sarkissian C., Jónsson H., Ginolhac A., Schaefer R., Martin M.D., Fernández R., Kircher M., McCue M., Willerslev E., Orlando L. Characterization of ancient and modern genomes by SNP detection and phylogenomic and metagenomic analysis using PALEOMIX. *Nature Protocols*. 2014;9:1056-1082. DOI: 10.1038/nprot.2014.063
- Vallebuena-Estrada M., Hernandez-Robles G.G., González-Orozco E., Lopez-Valdivia I., Rosales Tham T., Vasquez Sanchez V., Swarts K., Dillehay T.D., Vielle-Calzada J.P., Montiel R. Domestication and lowland adaptation of coastal preceramic maize from Paredones, Peru. *Elife*. 2023;12:e83149. DOI: 10.7554/eLife.83149. Erratum in: *Elife*. 2023;12:e91314.
- Wang X., Zhao X., Zhu J., Wu W. Genome-wide investigation of intron length polymorphisms and their potential as molecular markers in rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Research*. 2005;12(6):417-427. DOI: 10.1093/dnares/dsi019
- Wales N., Andersen K., Cappellini E., Ávila-Arcos M.C., Gilbert M.T.P. Optimization of DNA recovery and amplification from non-carbonized archaeobotanical remains. *PLoS ONE*. 2014;9(1):e86827. DOI: 10.1371/journal.pone.0086827
- Wales N., Kistler L. Extraction of ancient DNA from plant remains. *Methods Molecular Biology*. 2019:45-55. DOI: 10.1007/978-1-4939-9176-1_6
- Zakhrabekova S., Gough S.P., Braumann I., Müller A.H., Lundqvist J., Ahmannet K., Dockter C., Matyszczyk I., Kurowska M., Druka A., Waugh R., Graner A., Stein N., Steuernagel B., Lundqvist U., Hansson M. Induced mutations in circadian clock regulator *Mat-a* facilitated short-season adaptation and range extension in cultivated barley. *PNAS USA*. 2012;109(11):4326-4331. DOI: 10.1073/pnas.11130091109

Информация об авторах

Татьяна Вячеславовна Семилет, младший научный сотрудник, лаборатория постгеномных исследований, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, t.semilet@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7275-3878>

Лилия Юрьевна Шипилина, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория мониторинга биоресурсов и археоботаники, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, l.shipilina@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7590-3173>

Елена Константиновна Хлесткина, доктор биологических наук, профессор РАН, директор, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, director@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8470-8254>

Наталья Альбертовна Швачко, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующая, лаборатория постгеномных исследований, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, n.shvachko@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1958-5008>

Information about the authors

Tatiana V. Semilet, Junior Researcher, Laboratory of Postgenomic Research, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, t.semilet@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7275-3878>

Liliya Yu. Shipilina, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Bioresources Monitoring and Archaeobotany, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, l.shipilina@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7590-3173>

Elena K. Khlestkina, Dr. Sci. (Biology), Professor of the Russian Academy of Sciences (RAS), Director, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, director@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8470-8254>

Natalia A. Shvachko, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Head, Laboratory of Postgenomic Research, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, n.shvachko@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1958-5008>

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 01.11.2024; одобрена после рецензирования 18.12.2024; принята к публикации 24.12.2024.

The article was submitted on 01.11.2024; approved after reviewing on 18.12.2024; accepted for publication on 24.12.2024.

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

<https://biosel.elpub.ru/jour>

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

The screenshot displays the website for the journal "Биотехнология и селекция растений". The header features the journal title in large white letters on a blue background with a molecular structure. Below the title is a search bar and a navigation menu with links: ГЛАВНАЯ, О НАС, ТЕКУЩИЙ ВЫПУСК, АРХИВЫ, ОБЪЯВЛЕНИЯ, ПРИНЯТО В ПЕЧАТЬ. The main content area includes a featured article with a thumbnail image of a DNA helix and a field of crops, a list of links for authors (Отправить статью, Правила для авторов, Редакционная коллегия, Редакционный совет, Рецензирование, Этика публикаций), and a section for the current issue (Текущий выпуск) for Volume 7, No. 3 (2024). The issue section provides a link to download the PDF, the name of the chief editor (Е. К. Хластикова), and a link to the introductory article. The bottom of the page features a list of indexing services including DOAJ, AGRIS, СОЦИОНЕТ, research4life, LENS.ORG, LIBRARY.RU, Google, WorldCat, and Mendeley.

<https://biosel.elpub.ru/jour>

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*
Корректоры: *С.В. Шувалов, Е.И. Михайлова*
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 28.12.2024. Формат 70×100¹/₈.

Бумага офсетная. Печать офсетная.

Печ. л.14,5. Тираж 30 экз. Заказ № 384/1.

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

ООО «Р-ПРИНТ»
190000, Санкт-Петербург, пер. Гривцова, дом 6,
литера Б, офис 2-2



БИОТЕХНОЛОГИЯ
И СЕЛЕКЦИЯ
РАСТЕНИЙ

7(4), 2024