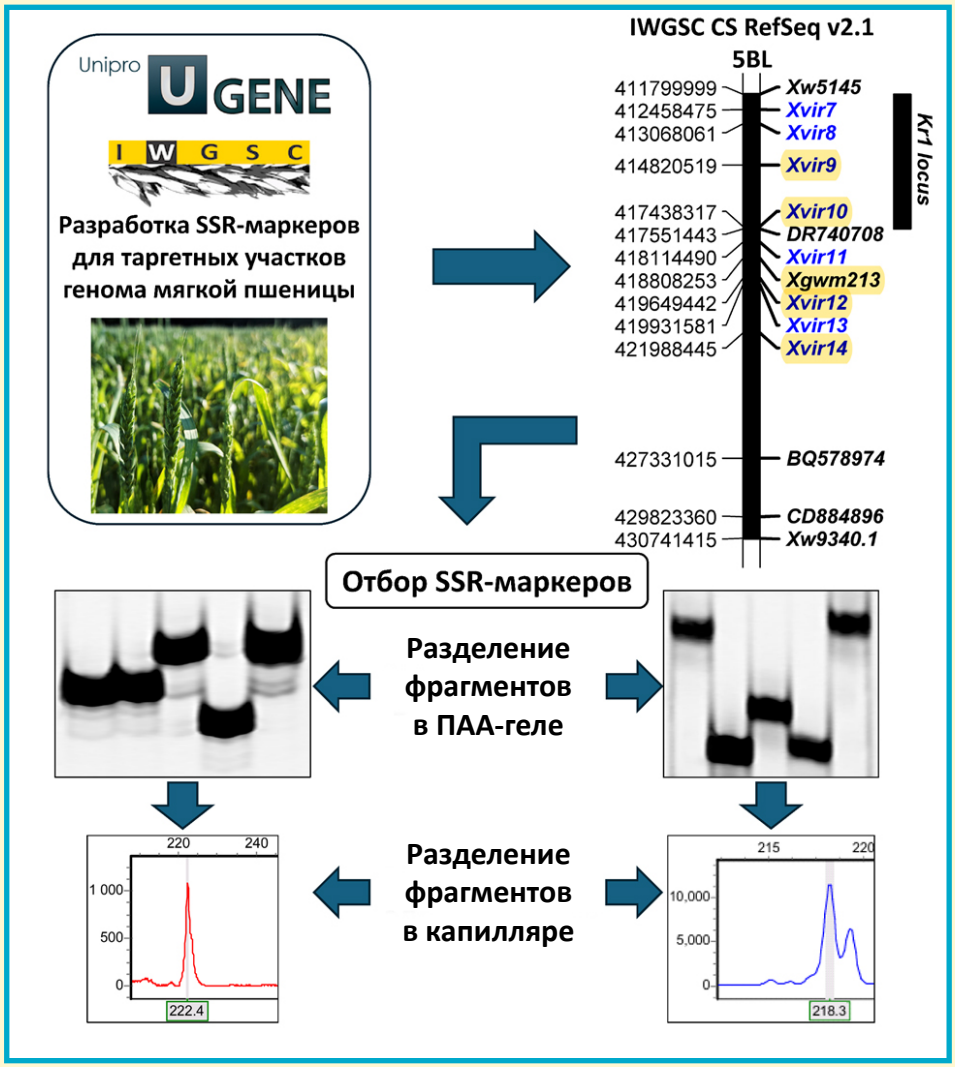
ISSN: 2658-6266 (Print)
ISSN: 2658-6258 (Online)

# БИОТЕХНОЛОГИЯ И СЕЛЕКЦИЯ РАСТЕНИЙ

9(3), 2026



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

2026, 9(3)

ОСНОВАН В 2018 ГОДУ
ПЕРИОДИЧНОСТЬ 4 РАЗА В ГОД

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

e-mail: pbi@vir.nw.ru

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

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

DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3
УДК: 573.6:631.527

ПИ № ФС77-74475
ISSN: 2658-6266 (Print)
ISSN: 2658-6258 (Online)

SCIENTIFIC PEER REVIEWED JOURNAL

# PLANT BIOTECHNOLOGY AND BREEDING

2026, 9(3)

FOUNDED IN 2018
PUBLISHED 4 TIMES ANNUALLY

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

e-mail: pbi@vir.nw.ru

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

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

На обложке:

**Фото:**
Схема разработки SSR-маркеров для таргетных регионов генома мягкой пшеницы на примере участка с локализацией гена *Kr1*, контролирующего скрещиваемость мягкой пшеницы с рожью.

**Материалы к статье:**
Поротников И.В., Антонова О.Ю., Митрофанова О.П. Характеристика полиморфизма в новых SSR-локусах, ассоциированных с признаком скрещиваемости пшеницы с рожью, контролируемым генами *SKr* и *Kr1*. *Биотехнология и селекция растений*. DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o8

Cover photo:

**Photo:**
Development scheme of SSR markers for target regions of the bread wheat genome as exemplified by the locus of the *Kr1* gene controlling crossability of bread wheat with rye.

**Materials for the article:**
Porotnikov I.V., Antonova O.Yu., Mitrofanova O.P. Characterization of polymorphism in new SSR loci associated with the wheat-rye crossability trait controlled by the *SKr* and *Kr1* genes. *Plant Biotechnology and Breeding*. DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o8

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

# Биотехнология и селекция растений

**2026 Том 9 № 3**

**DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3**
**https://biosel.elpub.ru**

**Научный рецензируемый журнал**
**Издается с 2018 г.**

Издание зарегистрировано Федеральной службой по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)
**Свидетельство о регистрации СМИ:** ПИ № ФС77-74475 от 30 ноября 2018 г.
**Учредитель:** Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР)»
**Адрес учредителя:** Россия, 190000, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, д. 42, 44

**Главный редактор:**
**Е. К. Хлесткина** – д.б.н.,
член-корреспондент 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 (Россия)

**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., профессор РАН, академик РАН (Россия)
А. В. Кильчевский – д.б.н., академик НАНБ (Беларусь)
Н. А. Колчанов – д.б.н., академик РАН (Россия)
В. Н. Корзун – д.б.н. (Германия)
А. В. Кочетов – д.б.н., профессор РАН, академик 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 – к.с.-х.н. (Казахстан)
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)

**Редакционная коллегия:**
Р. А. Абдуллаев – к.б.н. (Россия)
Е. Е. Андронов – д.б.н. (Россия)
Д. А. Афонников – д.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., член-корреспондент РАН (Россия)
С. В. Герасимова – к.б.н. (Россия)
М. С. Гинс – д.б.н., профессор РАН, член-корреспондент РАН (Россия)
С. В. Гончаров – д.б.н. (Россия)
Р. О. Давоян – д.б.н. (Россия)
Я. Н. Демурин – д.б.н. (Россия)
М. Г. Дивашук – к.б.н. (Россия)
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., член-корреспондент 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)
Е. А. Крылова – к.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)
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., член-корреспондент РАН (Россия)
Е. И. Михайлова – д.б.н. (Россия)
С. В. Осипова – д.б.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. Туруспеков – к.б.н., академик НАН РК (Казахстан)
Е. В. Ульяновская – д.с.-х.н. (Россия)
О. Ю. Урбанович – д.б.н. (Беларусь)
Ю. В. Ухатова – к.б.н. (Россия)
Ю. В. Фотев – к.с.-х.н. (Россия)
Э. Б. Хатефов – д.б.н. (Россия)
Я. А. Цепилов – к.б.н. (Россия)
Н. А. Швачко – 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)

© Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 2026

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

# Plant Biotechnology and Breeding

**2026 Volume 9 No 3**
**DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3**
**https://biosel.elpub.ru**

**Scientific Peer Reviewed Journal**

**Founded in 2018**

**Founder:** Federal Research Center
the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR)
**Founder's address:** 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000, Russia

**Editor-in-Chief:**
**E. K. Khlestkina** – Dr. Sci. in Biol.,
Corr. Member of the RAS (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 (Russia)

**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 of the RAS (Russia)
S. I. Grib – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the NAS of Belarus (Belarus)
G. I. Karlov – Dr. Sci. in Biol., Professor of the RAS, Full 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., Professor of the RAS, Full Member of the RAS (Russia)
N. A. Kolchanov – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the RAS (Russia)
V. N. Korzun – Dr. Sci. in Biol. (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 – Cand. Sci. in Agricul. (Kazakhstan)
A. A. Romanenko – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)
V. Roychev – Dr. Sci. in Agricul. (Bulgaria)
A. V. Ryndin – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)
E. N. Sedov – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)
I. A. Tikhonovich – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the RAS (Russia)

**Editorial board:**

R. A. Abdullaev – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
D. A. Afonnikov – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
E. E. Andronov – Dr. 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., Corr. Member of the RAS (Russia)
V. A. Gavrilova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
S. V. Gerasimova – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
M. S. Gins – Dr. Sci. in Biol., Professor of the RAS, 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)
E. A. Krylova – Cand. Sci. in Biol. (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)
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., Corr. Member of the RAS (Russia)
E. I. Mikhailova - Dr. Sci. in Biol. (Russia)
S. V. Osipova – Dr. Sci. in Biol. (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)
N. A. Shvachko – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
A. V. Smykov – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
A. A. Soloviev – Dr. Sci. in Biol., Professor of the RAS (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., Full Member of the NAS RK (Kazakhstan)
Yu. V. Ukhatova – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
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., Corr. Member of the RAS (Russia)

© Federal Research Center
the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 2026

## СОДЕРЖАНИЕ


**ОТ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА** **5**

***Хлесткина Е.К.***
ВСТУПИТЕЛЬНАЯ СТАТЬЯ

**РАЗВИТИЕ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ СЕЛЕКЦИИ** **7**

***Панков И.А., Бухарова А.Р.***
***Обзорная статья***

Генетические ресурсы земляники садовой *Fragaria* × *ananassa* для селекции на качество и устойчивость: мировые коллекции и Российский генофонд

**ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ** **21**

***Битюкова О.В., Матвеева Т.В., Лутова Л.А.***
***Обзорная статья***

Современное состояние и перспективы генной инженерии эвкалипта *Eucalyptus* spp. в контексте промышленного лесного хозяйства

**ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ** **31**

***Ермишин А.П., Воронкова Е.В., Гукасян О.Н.***
***Научная статья***

Выбор исходного материала и закладка диплоидных инбредных линий в рамках программы гетерозисной селекции картофеля

***Поротников И.В., Антонова О.Ю., Митрофанова О.П.*** **46**
***Научная статья***

Характеристика полиморфизма в новых SSR-локусах, ассоциированных с признаком скрещиваемости пшеницы с рожью, контролируемым генами *SKr* и *Kr1*

***Симагина А.С., Вертикова Е.А.*** **61**
***Научная статья***

Идентификация генов, ассоциированных с устойчивостью льна к пасмо


## CONTENTS


**FROM THE EDITOR IN CHIEF** **5**

***Khlestkina E.K.***
INTRODUCTORY ARTICLE

**DEVELOPMENT OF MODERN BREEDING METHODS** **7**

***Pankov I.A., Bukharova A.R.***
***Review article***

Genetic resources of garden strawberry *Fragaria* × *ananassa* as a basis for breeding for quality and resistance: world collections and the Russian gene pool

**GENETIC BASIS OF BIOTECHNOLOGY** **21**

***Bityukova O.V., Matveeva T.V., Lutova L.A.***
***Review article***

Genetic engineering of *Eucalyptus* spp.: current status and prospects for industrial forestry

**STUDY OF PLANT GENETIC RESOURCES USING MOLECULAR GENETICS METHODS** **31**

***Yermishin A.P., Voronkova E.V., Gukasian O.N.***
***Original article***

Selection of source material and establishment of diploid inbred lines within the framework of the potato heterotic breeding program

***Porotnikov I.V., Antonova O.Yu., Mitrofanova O.P.*** **46**
***Original article***

Characterization of polymorphism in new SSR loci associated with the wheat-rye crossability trait controlled by the *SKr* and *Kr1* genes

***Simagina A.S, Vertikova E.A.*** **61**
***Original article***

Identification of genes associated with flax resistance to pasmo

СОХРАНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ 70

***Сеферова И.В., Филипенко Г.И., Некрасов А.Ю., Забегаева О.Н.***

***Научная статья***

Всхожесть семян сои после долгосрочного низкотемпературного хранения и последующего хранения в комнатных условиях

CONSERVATION OF PLANT GENETIC RESOURCES USING BIOTECHNOLOGICAL APPROACHES 70

***Seferova I.V., Filipenko G.I., Nekrasov A.Yu., Zabegaeva O.N.***

***Original article***

Germination rate of soybean seeds after long-term low-temperature storage and subsequent storage under room conditions

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ 84

***Захарчевный И.Г., Попов В.С., Дук О.В., Малышев Л.Л.***

***Краткое сообщение***

Методика определения содержания кумаринов в семенах донника

***Михайлова А.С., Хлесткина Е.К.*** 91

***Краткое сообщение***

Особенности организации дуплицированных копий ортологов генов *AtTT2* и *AtTT8* арабидопсиса в геноме аллотетраплоидного хлопчатника

***Шамшин И.Н., Дулов М.И.*** 100

***Краткое сообщение***

Использование молекулярных маркеров генов устойчивости к мучнистой росе и бактериальному ожогу для скрининга коллекции сортов яблони института «Жигулёвские сады»

BRIEF COMMUNICATIONS 84

***Zakharchevnyy I.G., Popov V.S., Duk O.V., Malyshev L.L.***

***Brief communication***

A method for determining the content of coumarins in sweet clover seeds

***Mikhailova A.S., Khlestkina E.K.*** 91

***Brief communication***

Organization of duplicated copies of the *Arabidopsis* gene orthologs *AtTT2* and *AtTT8* in the allotetraploid cotton genome

***Shamshin I.N., Dulov M.I.*** 100

***Brief communication***

Using molecular markers of powdery mildew and fire blight resistance genes for screening the apple cultivar collection of the “Zhiguli Gardens” Institute

***Уважаемые читатели!***



В текущем выпуске мы уделяем основное внимание последним достижениям в области разработки современных методов селекции и изучения генетических ресурсов растений с применением молекулярно-генетических технологий, касающимся широкого спектра культур – в том числе льна, хлопчатника, сои, картофеля, яблони, земляники, зерновых и кормовых культур. Особого внимания заслуживает работа А.П. Ермишина с соавторами, связанная с задачами направления, получившего ренессанс на новом витке технологических возможностей – речь о гетерозисной селекции и связанными с ней принципами работы с исходным генетическим материалом. В обзоре О.В. Битюковой с соавторами рассмотрены достижения, составляющие основу для проведения генно-инженерных исследований с использованием эвкалипта для целей развития промышленного лесного хозяйства. Среди важнейших направлений селекции – подходы, базирующиеся на отдаленной гибридизации. В этом контексте несомненный интерес для читателя представляют результаты исследования И.В. Поротникова с соавторами о новых ДНК-маркерах, разработанных для генов скрещиваемости пшеницы с рожью. В обзорной статье И.А. Панкова и А.Р. Бухаровой комплексно рассматриваются генетические ресурсы земляники садовой. Отдельный акцент ставится авторами на возможностях использования ДНК-маркеров для хозяйственно ценных признаков. Этим же вопросам уделено внимание и в исследованиях И.Н. Шамшина, М.И. Дулова на яблоне и А.С. Симагиной, Е.А. Вертиковой на льне. При разработке диагностических маркеров у аллополиплоидных растений должны учитываться отличительные структурные и функциональные особенности отдельных копий дуплицированных генов. Особенностям эволюции дуплицированных копий генов хлопчатника, связанных с окраской волокна льна, посвящена работа А.С. Михайловой, Е.К. Хлесткиной. Среди лабораторных методов для экспресс оценки свойств и признаков генетических ресурсов растений особое место занимают методы анализа метаболитов. В текущем номере в статье И.Г. Захарчевного с соавторами представлено описание метода определения содержания кумаринов в семенах донника. Лабораторные методы сохранения и оценки всхожести семян после длительного хранения – отдельная важная тема для сравнительных исследований, результаты которых позволяют оптимизировать стандарты работы генетических банков. В текущем номере мы представляем работу И.В. Сеферовой с соавторами, выполненную в данном направлении применительно к сое.

Дорогие коллеги, уважаемые друзья, в 2026 году мировая научная общественность отмечает вековой юбилей знаменательного открытия – в 1926 году вышла работа Н.И. Вавилова «Центры происхождения культурных растений». Теория Вавилова не только внесла вклад в понимание истории

земледелия и общей истории человечества в целом, но и заложила основы для эффективного сбора самых ценных генетических ресурсов растений, а также задала векторы развития направлений исследований в сфере эволюции, генетики, биохимии, физиологии и селекции растений. Мы рады анонсировать научную конференцию «100 лет Вавиловской теории Центров происхождения культурных растений» (https://www.vir.nw.ru/blog/2026/07/08/cultplants-2026/), которая пройдет в Санкт-Петербурге 23–25 ноября 2026 года. В рамках конференции планируется обсудить современное развитие идей Н.И. Вавилова в контексте его теории о центрах происхождения.

*Главный редактор,*
*член-корреспондент РАН*
*Е.К. Хлесткина*

**Обзорная статья**
**УДК 634.75:575.1/.2**
**DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o4**

(cc) BY

# Генетические ресурсы земляники садовой *Fragaria* × *ananassa* для селекции на качество и устойчивость: мировые коллекции и Российский генофонд

**И. А. Панков, А. Р. Бухарова**

Российский государственный университет народного хозяйства имени В.И. Вернадского, Балашиха, Россия

***Автор, ответственный за переписку:*** Игорь Андреевич Панков, pan82@yandex.ru

В обзоре обобщены и систематизированы современные данные о мировых и российских генетических ресурсах земляники садовой *Fragaria* × *ananassa*, а также о молекулярно-генетических инструментах, применяемых в селекции на качество и устойчивость. Охарактеризована крупнейшая мировая коллекция USDA-ARS, Корваллис: 2006 образцов рода *Fragaria*, включая 603 сорта и гибрида *F.* × *ananassa*, а также коллекции Канады, Германии, Швейцарии, Италии, Японии, Франции. Впервые в отечественном обзоре детально представлены генетические ресурсы Италии: коллекции CREA, университета Болоньи: сорта ‘Asia’, ‘Alba’, ‘Clery’, ‘Irma’, и Японии, NARO: программы крупноплодности и высокой сахаристости. Российские коллекции поддерживают в совокупности около 1000 сортообразцов земляники, включая все дикие виды РФ и полный полиплоидный ряд. Рассмотрены молекулярные маркеры к генам качества плодов (*FaOMT, FaFAD1, FaMYB10*), генам устойчивости к болезням (*Rpf1, Rca2*), а также к локусу 08 To-f. Приведены данные о шестикратной вариабельности содержания аллергена Fra a 1 и об отсутствии корреляции с окраской плода. Проанализированы международные селекционные достижения стран: Китай, Италия, Япония, США. Сделан вывод о необходимости молекулярно-генетической паспортизации и создания единой открытой базы данных российских коллекций.

***Ключевые слова*:** международные селекционные достижения; российская селекция; молекулярные маркеры; аллергенность Fra a 1; MAS; антоцианы

***Для цитирования:*** Панков И.А., Бухарова А.Р. Генетические ресурсы земляники садовой *Fragaria* × *ananassa* для селекции на качество и устойчивость: мировые коллекции и Российский генофонд. *Биотехнология и селекция растений*. 2026;9(3):7-20. DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o4

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

© Панков И.А., Бухарова А.Р., 2026

**Review article**
**DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o4**

# Genetic resources of garden strawberry *Fragaria* × *ananassa* as a basis for breeding for quality and resistance: world collections and the Russian gene pool

**Igor A. Pankov, Almira R. Bukharova**

Vernadsky Russian State University of National Economy, Balashikha, Russia

***Corresponding author:*** Igor A. Pankov, pan82@yandex.ru

The review summarizes and systematizes current data on global and Russian genetic resources of garden strawberry *Fragaria* × *ananassa*, as well as molecular genetic tools used in breeding for quality and resistance. The world's largest collection at USDA-ARS (Corvallis), comprising 2006 accessions of the genus *Fragaria*, including 603 cultivars and hybrids of *F.* × *ananassa*, is characterized. Collections from Canada, Germany, Switzerland, Italy, Japan, and France are also described. For the first time a Russian review presents in detail the genetic resources of Italy: CREA collections, University of Bologna, cultivars 'Asia', 'Alba', 'Clery', 'Irma', and Japan, NARO: breeding programs for large fruit size and high sugar content. Russian collections maintain in total about 1000 accessions, including all wild species native to Russia and the entire polyploid series. Molecular markers linked to fruit quality genes (*FaOMT, FaFAD1, FaMYB10*), disease resistance genes (*Rpf1, Rca2*), and the locus 08 To-f are reviewed. Data on the six-fold variability of the major allergen Fra a 1 content and the absence of correlation with fruit color are presented. International breeding achievements of China, Italy, Japan, and USA are analyzed. A conclusion has been drawn regarding the need for molecular-genetic passportization and creation of a unified, open database of Russian collections.

***Keywords***: international breeding achievements, Russian breeding, molecular markers, allergenicity of Fra a 1, MAS, anthocyanins

***For citation:*** Pankov I.A., Bukharova A.R. Genetic resources of garden strawberry *Fragaria* × *ananassa* as a basis for breeding for quality and resistance: world collections and the Russian gene pool. *Plant Biotechnology and Breeding.* 2026;9(3):7-20. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o4

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

© Pankov I.A., Bukharova A.R., 2026

## Введение

Культура земляники садовой (*Fragaria* × *ananassa* Duch., 2n=8x=56) занимает лидирующие позиции среди ягодных растений благодаря высоким вкусовым и диетическим качествам плодов, а также значительной экономической рентабельности (FAO, 2023). В современных селекционных программах приоритет отдаётся созданию сортов, сочетающих высокую продуктивность с устойчивостью к биотическим и абиотическим факторам (Bryukhina et al., 2024). При этом особое внимание уделяется товарным качествам ягод, включая их крупноплодность и высокую транспортабельность, обусловленную плотностью мякоти и прочностью кожицы, что определяет пригодность сорта к механизированной уборке и длительному хранению (Muñoz et al., 2024).

Ключевую роль в этом процессе играет привлечение в гибридизацию генетических ресурсов, охарактеризованных по комплексу хозяйственно-биологических признаков (Pankov, Bukharova, 2024). Использование идентифицированных доноров и источников конкретных генов (Lyzhin et al., 2023) в сочетании с молекулярными методами позволяет значительно ускорить отбор ценных генотипов.

Прогресс в изучении генома земляники, включая секвенирование диплоидного вида *F. vesca* L. и октоплоидной культурной формы, позволил перейти от общего понимания организации наследственного материала к точному картированию локусов количественных признаков (QTL) и идентификации генов, контролирующих такие параметры, как плотность ягод, тип плодоношения и устойчивость к патогенам (Hardigan et al., 2021; Pankov, Bukharova, 2025). Однако многие аспекты, связанные с использованием генетических ресурсов, остаются не до конца раскрытыми. В частности, недостаточно систематизированы сведения о численности коллекций образцов рода *Fragaria* L. в разных странах и молекулярно-генетическом изучении образцов в связи с задачами селекции. Кроме того, сохраняется высокая актуальность улучшения потребительских и технологических свойств продукции, что требует детального исследования соответствующих целевых генов и валидации их маркеров (Vondracek et al., 2024; Marchenko, 2022).

Цель исследования – систематизировать и обобщить информацию о мировых и отечественных генетических ресурсах земляники садовой, а также о молекулярно-генетических инструментах, маркерах и подходах, применяемых в селекции на качество и устойчивость к неблагоприятным факторам биотического и абиотического характера, для определения приоритетных направлений создания перспективных сортов.

Объектом анализа являлись данные о генетических коллекциях и молекулярно-генетических маркерах земляники садовой, доступные в литературных источниках. Работа представляет собой обзор, выполненный с использованием открытых баз данных (GRIN, Genesys, Crop Trust) и публикаций, индексируемых в Scopus, Web of Science и РИНЦ за период 2013-2025 годов. Поиск материалов осуществляли по ключевым словам: *Fragaria* × *ananassa*, генетические коллекции, молекулярные маркеры, аллергенность Fra a 1, MAS, CRISPR/Cas9. В итоге было отобрано 52 источника, соответствующих заданным критериям.

## 1. Коллекции генетических ресурсов образцов рода *Fragaria* L.

По данным сводного отчёта Crop Trust (Khoury et al., 2026), в мире насчитывается не менее 63 учреждений, поддерживающих коллекции земляники и её диких родичей, с общим объёмом 8227 образцов.

**В зарубежных странах** наиболее полно представлено генетическое разнообразие рода *Fragaria* L. в Канадском клональном генбанке Министерства сельского хозяйства и продовольствия Канады и Национальном репозитории клоновых культур Службы сельскохозяйственных исследований Министерства сельского хозяйства США (Corvallis, USA; USDA-ARS NCGR, 2026). Согласно данным глобального отчёта Crop Trust (Khoury et al., 2026), общее число образцов в этих коллекциях составляет 2013 и 2006 образцов соответственно. По данным информационной сети по ресурсам зародышевой плазмы (USDA-ARS GRIN, 2026), в Национальном репозитории клоновых культур находится 603 образца и гибрида культурной земляники *F.* × *ananassa*, а также 1403 дикорастущих образца, относящихся к 24 видам (Khoury et al., 2026).

Ключевую роль в поддержании биоразнообразия земляники садовой в Европе играют специализированные центры в Швейцарии и Германии. Швейцарский фонд ProSpecieRara аккумулирует 559 образцов, фокусируясь на сохранении традиционных культурных сортов и редкого местного генофонда. Параллельно с этим, Институт селекционных исследований плодовых культур в Дрездене (JKI, Германия) поддерживает коллекцию из 467 образцов (включая дикие виды и селекционные линии), которая служит фундаментальной базой для разработки молекулярных маркеров и выведения сортов, устойчивых к климатическим стрессам и патогенам. Совокупный ресурс этих институтов обеспечивает необходимый генетический базис для предотвращения инбридинга и поиска уникальных аллелей адаптивности в современных селекционных программах (Senger et al., 2022; Khoury et al., 2026).

Италия занимает особое место в селекции земляники. Итальянские сорта, такие как ‘Asia’, ‘Alba’, ‘Clery’, ‘Irma’, ‘Alessia’, широко используются в промышленных насаждениях по всему миру, включая юг России. Генетические ресурсы Италии сосредоточены в центрах CREA (Forlì) и Университета Болоньи, а также в частных селекционных компаниях (New Fruits, CIV). Совокупный объём итальянских коллекций оценивается более чем в 200 образцов, включая элитные гибриды с высокой

транспортабельностью и стабильным качеством плодов (Faedi et al., 2014; Baruzzi et al., 2017). Однако, в отличие от США или Германии, Италия не имеет единого открытого репозитория генетических ресурсов, что затрудняет системный анализ.

Япония – ещё один важный центр генетического разнообразия и селекции. В генбанке NARO (Цукуба) поддерживается 572 образца, включая уникальные местные сорта и дикие виды. Японские селекционные программы ориентированы на ультракрупноплодность, высокую сахаристость (12-15°Brix) и изысканный аромат (Ogata et al., 2024). Японские коллекции также служат источником генов устойчивости к мучнистой росе и фитофторозу. Генетические ресурсы Японии, включая дикие виды *F. nipponica* Makino и *F. yezoensis* H. Hara, поддерживаются в NARO и служат источником аллелей адаптивности.

В Европе активная работа по систематизации генетических ресурсов земляники ведётся в рамках проекта BreedingValue (H2020; 2020-2025). Охарактеризовано более 1700 образцов из 15 организаций, создана открытая база данных Germinate (European Commission, 2025).

Сводные данные по крупнейшим коллекциям мира (FAO, 2025) представлены в таблице 1.

**Таблица 1. Крупнейшие мировые генетические коллекции земляники *(Fragaria* L.)**

**Table 1. Largest genetic collections of strawberry (*Fragaria* L.) in the world**

| Страна, регион/ Country, Region | Организация, репозиторий/ Organization, Repository | Число образцов, всего/ Number of accessions, total | В том числе *F.* × *ananassa*, сорта/ Including *F.* × *ananassa*, cultivars | Специализация, особенности/ Specialization, features |
|---|---|---|---|---|
| Канада/ Canada | Канадский клональный генбанк Министерства сельского хозяйства и продовольствия Канады/ Canadian Clonal Genebank, Agriculture and Agri-Food Canada – AAFC, код FAO: CAN004 | 2013 | 671 | Клоновые коллекции, адаптация к холоду/ Clonal collections, cold adaptation |
| США/ USA | Национальный репозиторий клональной гермплазмы в Корваллисе, Служба сельскохозяйственных исследований Министерства сельского хозяйства США/ National Clonal Germplasm Repository – NCGR, USDA-ARS, код FAO: USA029 | 2006 | 603 | Глобальный центр сохранения видового разнообразия дикорастущих сородичей, межвидовых гибридов и сортов; генотипирование и криоконсервация/ Global center for wild species diversity, hybrids, and cultivars; genotyping and cryopreservation |
| Россия/ Russia | Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР)/ N.I. Vavilov Federal Research Center All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), код FAO: RUS001 | 726 | 453 | Мобилизация клоновых коллекций, комплексный скрининг на адаптацию к низкотемпературным факторам, устойчивость к болезням и вредителям/ Clonal collections, evaluation for cold adaptation, disease and pest resistance |
| Япония/ Japan | Национальный центр генетических ресурсов, Национальная организация сельскохозяйственных и пищевых исследований/ National Agriculture and Food Research Organization – NARO, Research Center of Genetic Resources, код FAO: JPN003 | 572 | 97 | Комплексный скрининг коммерческих сортов и патентованных гибридов; селекция на крупноплодность, высокие вкусовые качества (сахаристость, аромат) и контролируемый тип цветения/ Evaluation of commercial cultivars and hybrids, breeding for large fruit size, high sugar content (Brix), aroma, and flowering habits |

**Таблица 1. Продолжение**

| Страна, регион/ Country, Region | Организация, репозиторий/ Organization, Repository | Число образцов, всего/ Number of accessions, total | В том числе *F.* × *ananassa*, сорта/ Including *F.* × *ananassa*, cultivars | Специализация, особенности/ Specialization, features |
|---|---|---|---|---|
| Швейцария/ Switzerland | Федеральный научно-исследовательский центр Agroscope, Швейцарский национальный генбанк растений/ Agroscope, Swiss National Genebank, National Database for Plant Genetic Resources, код FAO: CHE001 | 559 | 87 | Сохранение культурного агробиоразнообразия, инвентаризация и поддержание старинных европейских, редких и местных (автохтонных) сортов земляники/ Conservation of cultural agrobiodiversity, inventory and maintenance of old European, rare, and local cultivars |
| Германия/ Germany | Институт селекции плодовых культур Федерального исследовательского центра культурных растений Института имени Юлиуса Кюна/ Julius Kühn-Institut, Federal Research Centre for Cultivated Plants, Institute for Fruit Breeding | 467 | 202 | Коллекция для селекции устойчивости/ Collection for resistance breeding |
| Беларусь/ Belarus | Республиканское унитарное предприятие «Институт плодоводства»/ Republican Unitary Enterprise "Institute for Fruit Growing" - IFG, код FAO: BLR017 | 181 | н.д./ n.d. | Комплексная оценка хозяйственно-биологических признаков, селекция на зимостойкость, урожайность и крупноплодность/ Comprehensive evaluation, breeding for winter hardiness, yield and fruit size |
| Италия/ Italy | Исследовательский центр оливок, плодовых и цитрусовых культур - филиал в Форли – *CREA*/ Centro di Ricerca Olivicoltura, Frutticoltura e Agrumicoltura, sede di Forlì, код FAO: ITA380 | 175 | н.д./ n.d. | Промышленные сорта/ Industrial cultivars: ‘Asia’, ‘Alba’, ‘Clery’, ‘Irma’ |
| Испания/ Spain | Андалузский институт сельскохозяйственных, рыболовных, пищевых исследований и экологического производства – Центр в Чурриане/ Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Alimentaria y de la Producción Ecológica – Centro de Churriana, код FAO: ESP138 | 164 | н.д./ n.d. | Полногеномный поиск ассоциаций (GWAS), изучение генетического базиса летучих органических соединений (аромата) и плотности ягод; селекция сортов под средиземноморский климат/ Genome-wide association studies (GWAS), genetic basis of fruit volatiles (aroma) and firmness; breeding for Californian-Mediterranean climate adaptation |
| Другие страны (в сумме)/ Other countries (total) | - | 1364 | - | - |

Примечание: н.д. – нет точных данных в открытых источниках; данные на 2024-2025 годы по CREA, 2024; NARO, 2025; Khoury et al., 2026; USDA-ARS NCGR, 2026.
Note: n.d. – no precise data available in open sources; data for 2024-2025 according to NARO, 2025; Khoury et al., 2026; USDA-ARS NCGR, 2026.

Особое место в глобальной стратегии сохранения (Khoury et al., 2026) занимает Южная Корея, где Национальный институт садоводства и травянистых культур (NIHHS) в Сувоне выступает центральным депозитарием генетического разнообразия в регионе. Корейская коллекция, интегрированная в систему Rural Development Administration (RDA), активно используется для преодоления узкого генетического базиса современных сортов. Благодаря интенсивному использованию местных генетических ресурсов и диких сородичей, Корее удалось создать уникальную линейку сортов, таких как ‘Seolhyang’ и ‘Maehyang’, которые не только доминируют на внутреннем рынке, но и служат эталонами лежкости и вкусовых качеств для экспортно-ориентированной селекции. Исследования корейских ученых по секвенированию генома, например сорта ‘Seolhyang’ в 2025 году, дополняют работу европейских центров, создавая глобальную сеть данных для маркер-опосредованной селекции (MAS, от англ. marker assisted selection) и эффективного управления биоразнообразием.

Существенные расхождения в численных показателях, например, в депозитариях USDA-ARS, NCGR, NARO, IFAPA, вызваны разграничением понятий «общего ботанического разнообразия» и «активного селекционного сортимента». Международные агрегаторы – FAO WIEWS, Genesys PGR, EURISCO – учитывают кумулятивный объем рода *Fragaria*, включающий сотни дикорастущих видов, сородичей различной плоидности, собранных в ходе экспедиций. В то же время локальные рабочие каталоги институтов отражают лишь коммерческий и перспективный гибридный фонд *F.* × *ananassa*, доступный для селекционного оборота.

Анализ современного состояния отечественного генофонда позволяет выделить **в Российской Федерации** ведущие научно-исследовательские центры, ответственные за сохранение и изучение биоразнообразия рода *Fragaria* L. (табл. 2), многие из которых обладают статусом уникальных научных установок (УНУ). Данные в таблице приведены по российским источникам. Список сокращенных и полных названий учреждений приведены в Приложении/ Supplement 1[1].

**Таблица 2. Основные российские коллекции земляники**

**Table 2. Main Russian strawberry collections**

| Научное учреждение/ Scientific Institution | Количество образцов/ Number of accessions | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Количество образцов/ Number of accessions | Число сортов/ Number of cultivars | Число видов/ Number of species | Наличие образцов в Госреестре/ Presence in State Register | Источник/ Source |
| ВИР, Санкт-Петербург/ VIR, St. Petersburg | 510 | 128 | 24+ | Да/ Yes | УНУ «Коллекция генетических ресурсов растений ВИР»/ USU “VIR plant genetic resources gene bank” |
| ФГБНУ ФНЦ Садоводства, Москва/ Federal Scientific Center for Horticulture, Moscow | 134 | 25 | 5 | Да/ Yes | ЦКП научным оборудованием ФГБНУ ФНЦ Садоводства/ CRF of FSBRI FSC for Horticulture |
| ФГБНУ СКФНЦСВВ, Краснодар/ NCFSCHVW, Krasnodar | 123 | 8 | 1 | Да/ Yes | ЦКП «Исследовательско-селекционная коллекция генетических ресурсов садовых культур»/ CRF “Research and Breeding Collection of Fruit Crop Genetic Resources” |
| ФНЦ им. Мичурина, Мичуринск/ Michurin FSC, Michurinsk | 101 | 10 | н.д./ n.d. | Да/ Yes | Генетическая коллекция ФНЦ им. И.В. Мичурина/ Genetic Collection of the Michurin FSC |

[1] Приложение доступно в онлайн версии статьи/ The supplement is available in the online version of the paper: DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o4

**Таблица 2. Продолжение**

| Научное учреждение/ Scientific Institution | Количество образцов/ Number of accessions | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Количество образцов/ Number of accessions | Число сортов/ Number of cultivars | Число видов/ Number of species | Наличие образцов в Госреестре/ Presence in State Register | Источник/ Source |
| Свердловская ССС, Екатеринбург/ Sverdlovsk HBS, Yekaterinburg | 64 | 13 | н.д./ n.d. | Да/ Yes | УНУ «Генофонд плодовых, ягодных и декоративных культур на Среднем Урале»/ USU “Germplasm of Fruit, Berry and Ornamental Crops in the Middle Urals” |
| ВНИИСПК, Орел/ VNIISPK, Oryol | 31 | - | 1 | Нет/ No | Биоресурсная коллекция ФГБНУ ВНИИСПК/ Bio-resource Collection of VNIISPK |
| НИИС Сибири им. М.А. Лисавенко/ Lisavenko RIAS | 10 | 10 | н.д./ n.d. | Да/ Yes | Биоресурсная коллекция ФАНЦА/ Bio-resource Collection of FASCA |

Коллекция ВИР является крупнейшим в России депозитарием генетических ресурсов рода *Fragaria* L., охватывающим 24 вида и значительный фонд сортов. Структура фонда, включающая 19% дикорастущих видов и 81% культивируемых форм, в том числе 25% отечественных и 56% зарубежных сортов, служит активной базой для поиска доноров ценных признаков (Kharchenko, Chukhina, 2024).

Образцы сохраняются в живом виде в полевых генбанках на Майкопской, Полярной опытных станциях, Крымской опытно-селекционной станции, а также на научно-производственной базе «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР». В национальный каталог особо ценных генетических ресурсов включено 510 образцов, 39 сортов зарегистрированы в Госреестре селекционных достижений РФ. Важно отметить, что в коллекции представлены образцы всех видов рода *Fragaria*, встречающихся на территории России, и весь полиплоидный ряд – от диплоидов до декаплоида (Kharchenko, Chukhina, 2024).

В отделе генофонда ВСТИСП поддерживается 134 сортообразца, выделяющихся зимостойкостью и устойчивостью к патогенам (FSBRI Horticulture, 2026). В ФНЦ им. И.В. Мичурина коллекция насчитывает около 100 видообразцов и сортов отечественной и зарубежной селекции; на её основе ведутся исследования биохимического полиморфизма и молекулярно-генетический анализ генов аромата – *FaOMT*, *FaFAD1* – и устойчивости к патогенам, контролируемой генами *Rpf1*, *Rca2* (Luk’yanchuk et al., 2018; Lyzhin, Luk’yanchuk, 2023).

В СКФНЦСВВ поддерживается коллекция промышленных сортов земляники, таких как: ‘Нелли’, ‘Кемия’, ‘Таира, успешно конкурирующих с сортами зарубежной селекции на юге России. Наряду с этим здесь созданы 15 розовоцветковых гибридов, сочетающих декоративные качества с хозяйственно-ценными признаками (Lapshin, Yakovenko, 2024). Общая численность сортообразцов в СКФНЦСВВ превышает 120 единиц. Коллекции также поддерживают в Камчатском НИИСХ, Коми НЦ УрО РАН и Удмуртском ГАУ (Nevostrueva, 2018; Markova, Nevostrueva, 2025).

Изучение этих коллекций в разных экологических условиях позволяет выявлять сорта со стабильными показателями. Так, в ходе многолетних исследований на базе СКФНЦСВВ были получены сорта ‘Хоней’, ‘Азия’, ‘Альба’, ‘Ирма’, ‘Алина’, отличающиеся стабильно высокой продуктивностью и качеством ягод (Lapshin et al., 2019). Установлено, что в условиях Краснодара значима средовая компонента изменчивости, тогда как в предгорной зоне Крымска преобладает влияние генотипа, что подчёркивает важность учёта взаимодействия генотип-среда при отборе исходного материала (Lapshin et al., 2019).

Соотношение объёмов мировых и российских коллекций наглядно представлено на рис. 1.

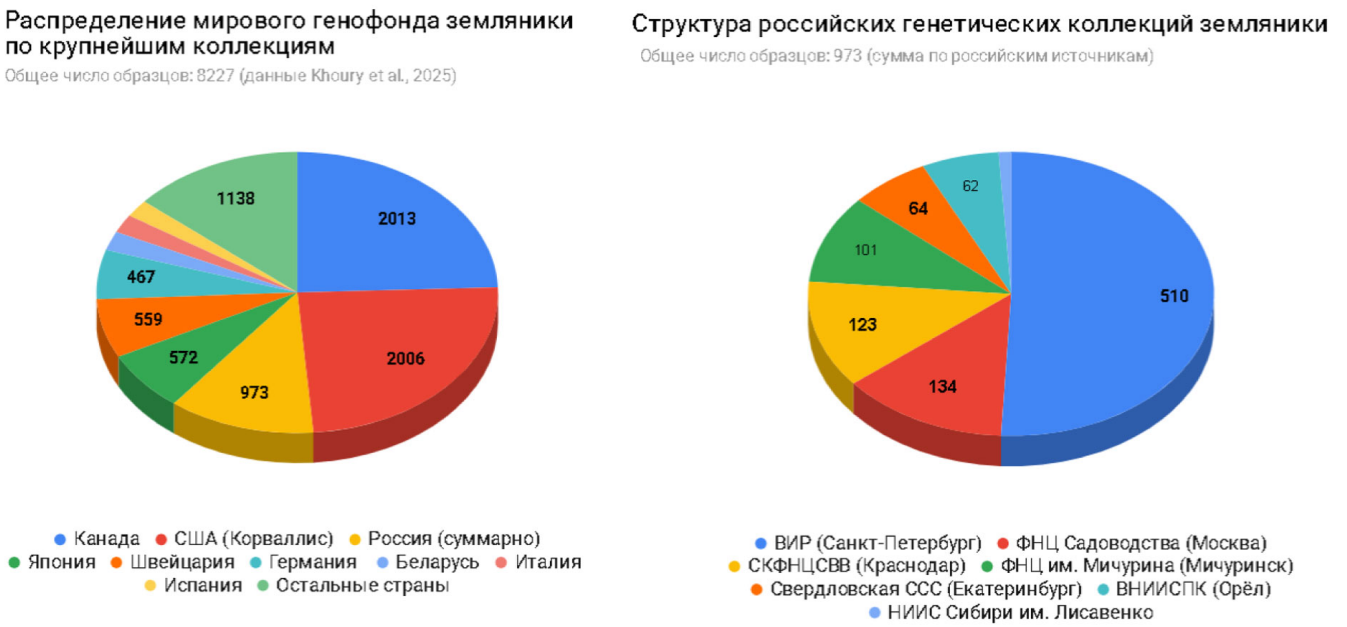



**Рис. 1. Число образцов земляники в коллекциях зарубежных стран и России**

**Fig. 1. Number of strawberry accessions in foreign and Russian collections**

(Lapshin et al., 2019; Lyzhin, Luk'yanchuk, 2023; Kharchenko, Chukhina, 2024; Lapshin, Yakovenko, 2024; Markova, Nevostrueva, 2025; FSBRI Horticulture, 2026; Khoury et al., 2026; USDA-ARS, 2026).

На территории Российской Федерации учет генетических ресурсов садовых культур носит децентрализованный характер и рассредоточен по объектам с различным юридическим статусом: Уникальные научные установки (УНУ), Биоресурсные коллекции (БРК) и Центры коллективного пользования (ЦКП). Они курируются по внутренним реестрам Министерства науки и высшего образования РФ, что затрудняет их автоматическую прямую интеграцию в международные поисковые системы, но обеспечивает строгую внутреннюю отчетность и государственное финансирование.

## 2. Молекулярно-генетические маркеры как инструмент для менеджмента коллекций земляники и маркер-опосредованной селекции

**2.1. Маркеры качества плодов.** Ключевой компонент аромата земляники – мезифуран – синтезируется при участии гена *FaOMT (*Kiseleva et al., 2025). Применение кодоминантного SCAR-маркера FaOMT-SI/NO позволило выявить функциональный аллель *FaOMT*+ у 86,4% исследованных форм; гомозиготные по этому аллелю генотипы, например гибриды 1/6-41 и 5/1-105, способны передавать признак всему потомству (Lyzhin, Luk'yanchuk, 2023). Ещё один важный ген аромата – *FaFAD1*, ответственный за синтез γ-декалактона (Lyzhin, Luk'yanchuk, 2024a).

Идентификация ключевых регуляторов антоцианового обмена, таких как гены семейства MYB (*FaMYB10*), открывает возможности для направленного улучшения биохимического профиля плодов и их товарного вида. Интеграция молекулярных данных с методами полевой экспресс-оценки (Lyzhin et al., 2019) обеспечивает эффективный отбор форм с высоким антиоксидантным потенциалом и интенсивной окраской мякоти, что критически важно для создания сортов функционального назначения.

Разработана цветная шкала для полевой экспресс-оценки содержания антоцианов, корреляция с лабораторными измерениями составила r=+0,82 (Lyzhin et al., 2019). Китайскими учёными идентифицированы гены семейства MYB, в том числе *FaMYB10*, регулирующие биосинтез антоцианов в плодах и лепестках (Xue et al., 2019; Liu et al., 2021).

Содержание сахаров и витамина С относится к полигенно наследуемым признакам. У земляники идентифицированы QTL на хромосомах 2A и 4B, ассоциированные с накоплением сахарозы и фруктозы (Verma et al., 2017). Полногеномный анализ генов, участвующих в метаболизме аскорбиновой кислоты, позволил обнаружить 125 генов-кандидатов, включая компоненты D-маннозного/L-галактозного пути – *FaGMP*, *FaGME*, *FaGGP*, *FaGalLDH* – и альтернативного D-галактуронатного пути – *FaGalUR*. Показано, что экспрессия *FaGalUR* резко возрастает при созревании плодов, что коррелирует с увеличением содержания витамина С (Liu et al., 2022). Гены *FaGGP,* контролирующие синтез GDP-L-галактозофосфорилазы, и *FaGalLDH*, кодирующие L-галактонолактондегидрогеназу, также вносят вклад в регуляцию

пула аскорбата (Liu et al., 2022). Повышение активности *FaGGP* может способствовать увеличению уровня витамина С в ягодах.

**2.2. Маркеры устойчивости к патогенам**. Устойчивость земляники к широко распространённым грибным и псевдогрибным заболеваниям – антракнозу, фитофторозному увяданию и мучнистой росе – контролируется несколькими основными генами и локусами количественных признаков (QTL), для которых разработаны диагностические молекулярные маркеры.

Для идентификации генотипов, устойчивых к антракнозу, возбудителями которого является *Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds, *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., широко используется молекулярный маркер STS-Rca2_240, сцепленный с доминантным геном *Rca2*. Данный маркер выявлен у сортов ‘Боровицкая’, ‘Aprica’ и отборной формы 933-4 (Luk’yanchuk, Lyzhin, 2023). Исследованиями последних лет подтверждено наличие аллеля устойчивости у ряда других перспективных генотипов. В частности, с помощью ДНК-маркирования ген *Rca2* был идентифицирован у сортов ‘Царица’, ‘Витязь’, ‘Соловушка’ (Tarasova et al., 2024), а также подтверждена его высокая частота встречаемости у сортов ‘Флоренс’, ‘Альба’ и ‘Азия’ (Keldibekova, Zubkova, 2023), что расширяет возможности подбора родительских форм для селекции на иммунитет.

В отношении устойчивости к фитофторозному увяданию, возбудителем которого является *Phytophthora cactorum* (Lebert & Cohn) J. Schröt., маркер SCAR-R1A гена *Rpf1* у изученных сортов отсутствовал, что указывает на их гомозиготность по рецессивному аллелю данного гена (Luk’yanchuk et al., 2018). Однако ведутся работы по поиску альтернативных источников устойчивости среди диких видов.

Мучнистая роса, вызываемая патогеном *Sphaerotheca macularis* f. *fragariae* Jacz., широко распространена и наносит значительный ущерб. Устойчивость контролируется генами в нескольких локусах, среди которых выделяется QTL 08 To-f на хромосоме 6A, для которого разработан диагностический маркер IB535110 (Koishihara et al., 2020). Валидация этого маркера на российской гермплазме подтвердила его эффективность (Lyzhin, Luk’yanchuk, 2024b). Скрининг 47 сортов коллекции ФНЦ им. Мичурина выявил наличие локуса у девяти образцов (19,1%): трёх отечественных – ‘Богема’, ‘Дивная’, ‘Студенческая’ – и шести зарубежных – ‘Brilla‘, ‘Faith‘, ‘Gigantella Maxim‘, ‘Marshall‘, ‘Samson‘, ‘Tokado’. Сорта, обладающие фенотипической устойчивостью, но не несущие локуса 08 To-f – ‘Гирлянда’, ‘Крымчанка 87’, ‘Памяти Зубова’, ‘Русич’, ‘Троицкая’, ‘Юниол’, ‘Яркая’, ‘Arosa’, ‘Kent’, ‘Selva’, – свидетельствуют о существовании иных генетических механизмов защиты. Сходные результаты получены при скрининге 32 сортов земляники селекции Свердловской селекционной станции садоводства: локус устойчивости к мучнистой росе 08 To-f выявлен у 12 образцов (37,5 %), тогда как ген устойчивости к антракнозу *Rca2* не обнаружен ни у одного из исследованных сортов (Khudyakova, Markova, 2025).

Наиболее валидированные и используемые в селекционных программах маркеры представлены в табл. 2.

**Таблица 2. Основные молекулярные маркеры, используемые в селекции земляники**

**Table 2. Main molecular markers in strawberry breeding**

| Ген, локус (Маркер)/ Gene, locus (Marker) | Признак/ Trait | Тип маркера/ Marker type | Источник/ Reference |
|---|---|---|---|
| *FaOMT* (FaOMT-SI/NO) | Аромат (мезифуран)/ Aroma (mesifurane) | SCAR | Baruzzi et al., 2017; Lyzhin, Luk’yanchuk, 2023 |
| *FaFAD1* (AX-166512929) (FaFAD1-F/R) | Аромат (γ-декалактон)/ Aroma (γ-decalactone) | SNP SCAR | Oh et al., 2021 Lyzhin, Luk’yanchuk, 2024a |
| *Rca2* (STS-Rca2_240) | Устойчивость к антракнозу/ Anthracnose resistance | STS | Faedi et al., 2014; Lyzhin, Luk’yanchuk, 2023 |
| *Rpf1* (SCAR-R1A) | Устойчивость к фитофторозу/ Phytophthora resistance | SCAR | Luk’yanchuk et al., 2018 |
| 08 To-f; (IB535110) | Устойчивость к мучнистой росе/ Powdery mildew resistance | SCAR | Koishihara et al., 2020; Lyzhin, Luk’yanchuk, 2024b |

Перечисленные в таблице 2 маркеры охватывают ключевые направления селекции – улучшение вкусовых качеств, повышение содержания антоцианов и устойчивость к основным болезням. Наибольшую практическую ценность представляют маркеры генов *FaOMT*, *Rca2* и локуса QTL 08 To-f, уже используемые в селекционных программах. Экспресс-метод оценки антоцианов по цветной шкале также заслуживает внимания как доступный инструмент массового фенотипирования.

**2.3. Аллергенность земляники и селекция на гипоаллергенность.** Плоды земляники являются одним из распространенных аллергенов. Главным аллергенным белком земляники признан Fra a 1, гомологичный аллергену пыльцы берёзы Bet v 1. В геноме идентифицировано 39 генов, кодирующих 30 изоформ, из которых ключевую роль в плодах играет Fra a 1.02 (Franz et al., 2013; Ishibashi et al., 2018). Содержание Fra a 1 варьирует от 0,67 до 3,97 мкг/г сырой массы, причём межсортовые различия могут достигать шестикратной величины (Kurze et al., 2018).

С генетической точки зрения, содержание Fra a 1.02 относится к категории количественных признаков. Это обусловлено тем, что семейство генов Fra a у октоплоидной земляники представлено 39 копиями, что определяет непрерывный характер изменчивости. В гибридном потомстве наблюдается непрерывное распределение по уровню аллергена, а не дискретное расщепление на «аллергенные» и «неаллергенные» формы (Ishibashi et al., 2018). Выявленные значительные различия между сортами указывают на возможность эффективного отбора на пониженную аллергенность.

Принципиально важным для селекции является вывод об отсутствии корреляции между окраской плода и содержанием Fra a 1. Бело- и желтоплодные сорта, например, ‘Пайнберри’, ‘Белый швед’, накапливают аллерген в количествах, сопоставимых с красноплодными (iGEM Harvard, 2010; Kurze et al., 2018). Поэтому визуальная оценка не может служить надёжным критерием.

Селекционные подходы при создании гипоаллергенных сортов должна включать следующие этапы:

1. Скрининг коллекционных образцов с помощью иммунохимических методов (ELISA) для выявления генотипов с низким содержанием Fra a 1.02 (Kurze et al., 2018).

2. Вовлечение отобранных форм в гибридизацию с сортами, обладающими комплексом хозяйственно-ценных признаков: урожайность, качество плодов, устойчивость к неблагоприятным факторам биогенного и абиогенного характера. В потомстве необходим отбор с использованием иммунохимического анализа (ELISA) для контроля содержания Fra a 1 и, при наличии разработанных маркеров, MAS. Поскольку различия в уровне аллергенности определяются главным образом вариациями в экспрессии генов семейства Fra a, а не изменениями в кодирующих последовательностях, разработка простых функциональных маркеров может быть затруднена. В этом случае перспективным является использование маркеров, сцепленных с локусами количественных признаков (QTL), которые контролируют уровень синтеза Fra a 1 (Franz et al., 2013).

3. Закрепление признака путём многократных отборов и возвратных скрещиваний.

Хотя методами генной инженерии, например использования метода РНК-интерференции, доказана принципиальная возможность подавления экспрессии Fra a 1 (iGEM Harvard, 2010), коммерческие сорта на этой основе пока не созданы. Таким образом, наиболее реалистичным остаётся традиционный селекционный подход с опорой на генетические коллекции.

## 3. Международные селекционные программы

Китай, являясь мировым лидером по производству земляники, активно развивает собственные селекционные программы, ориентированные на создание сортов с улучшенными потребительскими и декоративными свойствами. Особого внимания заслуживают работы по выведению розовоцветковых форм, сочетающих высокую холодостойкость с привлекательным внешним видом, а также фундаментальные исследования генетики антоцианов. L. Xue с соавторами (Xue et al., 2015; 2019) провели серию работ по созданию розовоцветковых сортов с повышенной холодостойкостью и изучению метаболизма антоцианов. Ключевые достижения:

- создание высокополиплоидных розовоцветковых форм с улучшенной зимостойкостью (Xue et al., 2015);
- анализ транскриптома и метаболома лепестков для выяснения механизмов синтеза антоцианов (Xue et al., 2019);
- изучение роли микроРНК в регуляции окраски цветков (Yue et al., 2022).

Высокополиплоидные розовоцветковые формы с улучшенной зимостойкостью были получены в результате межплоидных скрещиваний (Xue et al., 2015). Исходным растительным материалом послужили октоплоидный розовоцветковый сорт земляники садовой ‘Pink Princess’ (2n=8x=56) и синтетическая додекаплоидная форма YH15-10 (2n=12x=84), созданная с участием дикорастущего вида *Fragaria iturupensis* Staudt. Полученные в ходе работы декаплоидные гибриды (2n=10x=70) превзошли родительские формы по зимостойкости, сохранив при этом декоративную окраску лепестков.

Y. Hong с соавторами (Hong et al., 2021) изучили накопление антоцианов в лепестках сорта ‘Meihong’ и экспрессию генов MYB. J. Liu с соавторами (Liu et al., 2021) провели полногеномный анализ семейства R2R3-MYB у земляники и его роль в биосинтезе антоцианов у розовоцветковых форм. Созданы сорта ‘Zijinhong’, ‘Pink Beauty’, ‘Pretty Beauty’, ‘Zijin Fenyu’, отличающиеся высокой декоративностью и адаптированные к различным климатическим условиям (Wang et al., 2017; Guan et al., 2023).

Италия является одним из мировых лидеров по созданию промышленных сортов земляники, адаптированных к интенсивным технологиям выращивания. Сорта ‘Asia’, ‘Alba’, ‘Clery’, ‘Irma’, ‘Alessia’, а также более поздние селекционные достижения, такие как ‘Laetitia’, характеризуются высокой урожайностью, выравненностью плодов, хорошей транспортабельностью и устойчивостью к основным патогенам. Многие из этих сортов районированы на юге России и успешно конкурируют с местными

формами (Lapshin et al., 2019). В селекционных программах Италии широко используются молекулярные маркеры, в том числе для отбора по признакам: аромат, контролируемый геном *FaOMT*, и антракноз, который находится под контролем гена *Rca2* (Faedi et al., 2014; Baruzzi et al., 2017).

Япония известна уникальным направлением селекции, ориентированным на сверхкрупные плоды (более 30 г) с очень высоким содержанием сахаров (до 15°Brix) и сложным ароматом. Популярные коммерческие сорта, такие как 'Tochiotome' и 'Akihime', доминируют на свежем рынке, в то время как специализированные гиганты (например, 'Skyberry' или 'Bijin-hime') выращиваются для премиального сегмента и могут продаваться поштучно в качестве элитных подарков. Японские исследователи активно изучают генетический контроль сахаристости (QTL на хромосомах 2A и 4B) и разрабатывают маркеры для MAS (Yamamoto, 2024).

Кроме коллекции в Корваллисе, в США активно работают частные и университетские селекционные программы – Калифорнийского университета в Дэвисе, Университета Флориды, компании Driscoll's, Plant Sciences Inc. Основные направления – устойчивость к фузариозному увяданию (гены *Fwf1-4*), фитофторозу (*Rpf1*) и антракнозу (*Rca2*), а также улучшение текстуры и срока хранения плодов (Pincot et al., 2022). Сорта 'Albion', 'Monterey', 'San Andreas' широко распространены по всему миру.

Проведённый анализ показывает, что мировые генетические банки земляники – NCGR в Корваллисе, США, Канадский клональный генбанк, NARO в Японии, ProSpecieRara в Швейцарии, Институт плодоводства в Дрездене, Германия, CREA в Италии – отличаются высокой степенью охарактеризованности генофонда и играют ключевую роль в его сохранении (Khoury et al., 2026). В обзоре детально систематизированы данные по итальянским и японским коллекциям, которые ранее не были обобщены в отечественной литературе. Показано, что Италия, не имея единого открытого репозитория, остаётся ключевым поставщиком промышленных сортов: 'Asia', 'Alba', 'Clery', 'Irma' для юга России, тогда как японские программы, ориентированные на сверхкрупные плоды и высокую сахаристость, представляют уникальный генетический ресурс для улучшения вкусовых качеств.

Российские коллекции, около 1000 образцов, содержат весь полиплоидный ряд и все дикие виды РФ, но остаются разобщёнными, что требует создания единой базы данных и молекулярно-генетической паспортизации (Lyzhin, Luk'yanchuk, 2024a). Рассмотренные молекулярные маркеры гена *FaOMT* качества плодов, гена *Rca2* устойчивости к болезням, а также локуса 08 To-f уже эффективно используются в MAS, однако для полигенных признаков – содержание сахаров, витамина С (Zhbanova et al., 2019), аллергенность – необходимо использование QTL-маркеров или методик CRISPR/Cas9. Важным практическим выводом является отсутствие корреляции между содержанием аллергена Fra a 1 и окраской плода (Kurze et al., 2018), что опровергает распространённое заблуждение о гипоаллергенности белоплодных сортов. Скрининг коллекций методами ELISA остаётся наиболее реалистичным путём, ведущим к созданию гипоаллергенных форм.

Международные селекционные достижения – такие как китайские розовоцветковые формы, японские высокосахаристые сорта, американские гены устойчивости к фузариозу – расширяют возможности для российской селекции, особенно в условиях изменения климата.

## Заключение

Суммарный мировой генофонд земляники превышает 8200 образцов; крупнейшая коллекция NCGR (Корваллис, США) насчитывает 2006 образцов, из которых 603 – сорта и гибриды *F.* × *ananassa*. Российские коллекции содержат около 1000 образцов, включая все дикие виды РФ и весь полиплоидный ряд от диплоидов до декаплоида. Молекулярные маркеры генов *FaOMT, FaFAD1* качества плодов, гена *Rca2* устойчивости к болезням, а также локуса 08 To-f позволяют эффективно отбирать генотипы с улучшенным ароматом и устойчивостью к антракнозу и мучнистой росе. Содержание аллергена Fra a 1 варьирует в зависимости от сорта – различия достигают шестикратных значений – и не коррелирует с окраской плодов, что обосновывает селекцию гипоаллергенных форм на основе скрининга методами ELISA. Приоритетные направления: MAS по признакам, контролируемых генами *FaOMT*, *Rca2*, определяемых локусом 08 To-f; CRISPR/Cas9 для подавления Fra a 1; интрогрессия ценных аллелей от диких видов; создание открытой базы данных российских коллекций.

## References/Литература


Baruzzi G., Ballini L., Baroni G., Birolli M., Capriolo G., Carullo A., D'Anna F., Funaro M., Lucchi P., Magnani S., Maltoni M.L., Sbrighi P., Turci P., Faedi W. Updates on Italian strawberry breeding programs coordinated by CREA-FRF. In: Y. Desjardins (ed.). *Acta Horticulturae. Proceedings of the VIII International Strawberry Symposium. Vol. 1. International Society for Horticultural Science (ISHS); 2016 August 13-17; Québec City, Canada*. ISHS; 2017. No. 1156-26. p.179-184. DOI: 10.17660/ActaHortic.2017.1156.26

Bryukhina S.A., Trunov Yu.V., Medelyaeva A.Yu. Current trends in the formation of the garden strawberry assortment on the Russian planting material market. *Bulletin of Michurinsk State Agrarian University*. 2024;(3(78)):15-20. [in Russian] (Брюхина С.А., Трунов Ю.В., Меделяева А.Ю. Современные тенденции формирования сортимента земляники садовой на российском рынке посадочного материала. *Вестник Мичуринского государственного аграрного университета.* 2024;(3(78)):15-20). URL: https://cyberleninka.ru/article/n/sovremennye-tendentsii-formirovaniya-sortimenta-zemlyaniki-sadovoy-na-rossiyskom-rynke-posadochnogo-materiala/viewer [дата обращения: 20.02.2026].

European Commission. BreedingValue project. Periodic Reporting for period 3 - BreedingValue (Pre-breeding strategies for obtaining new resilient and added value berries). Reporting period: 2024-01-01 to 2025-06-30. CORDIS; 2025. Available from: https://

cordis.europa.eu/project/id/101000747/reporting [accessed Sept. 17, 2026].
Faedi W., Baruzzi G., Lucchi P., Carnevali P., D'Anna F., Gamberini A., Rosati C., Sansavini S. Updates on Italian strawberry breeding programs coordinated by CRA-FRF. In: J. Maas, Yuntao Zhang (eds). *Acta Horticulturae*. *Proceedings of the VII International Strawberry Symposium. Vol. 1. International Society for Horticultural Science (ISHS); 2012 February 18-22; Beijing, China.* ISHS; 2014. No. 1049-141. p.1071-1076. DOI: 10.17660/ActaHortic.2014.1049.141
FAO. Government expenditures in agriculture 2001-2022. Global and regional trends. FAOSTAT Analytical Brief 78. Rome: FAO; 2023. Available from: https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/eb4b76ff-a4b6-4588-8657-9f1f3fc6fee9/content [accessed Sept. 17, 2026].
FAO. The Third Report on The State of the World's Plant Genetic Resources for Food and Agriculture. FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture Assessments. Rome: FAO; 2025. p.289-290. Available from: https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/de5bdada-4fb7-40f3-9f0e-061d4a7814f8/content [accessed Sept. 17, 2026].
Franz K., Eberlein B., Hücherig S., Hattendorf J., Saller R., Kopp M., Jappe U., Becker W.M., Petersen A. Breeding of hypoallergenic strawberry fruit. *Journal of Berry Research*. 2013;3(4):197-201. DOI: 10.3233/JBR-130061
FSBRI Horticulture. Research Department of Plant Gene Pool and Bioresources. Available from: https://vstisp.org/vstisp/index.php/2-uncategorized/213-nauno-issledovatelskij-otdel-genofonda [accessed Feb. 17, 2026].
Germplasm Resources Information Network (GRIN): database. Beltsville (USA): USDA-ARS; 2026. Available from: https://www.ars-grin.gov/ [accessed Feb. 20, 2026].
Genesys: online platform where you can find information about Plant Genetic Resources for Food and Agriculture (PGRFA) conserved in genebanks worldwide. Bonn (Germany): Global Crop Diversity Trust; 2026. Available from: https://www.genesys-pgr.org [accessed Feb. 20, 2026].
Guan L., Wilson Z.A., Zhao M., Li X., Zhang Y., Wang J. New germplasm for breeding: pink-flowered and white-fruited strawberry. *HortScience*. 2023;58(9):1005-1009. DOI: 10.21273/HORTSCI17047-22
Hardigan M.A., Lorant A., Pincot D.D.A., Feldmann M.J., Famula R.A., Acharya C.B., Lee S., Verma S., Whitaker V.M., Bassil N., Zurn J., Cole G.S., Bird K., Edger P.P., Knapp S.J. Unraveling the complex hybrid ancestry and domestication history of cultivated strawberry. *Molecular Biology and Evolution*. 2021;38(6):2285-2305. DOI: 10.1093/molbev/msab024
Hong Y., Ye Q., Li Z., Wang W., Xie Q., Chen Q., Chen J. Accumulation of anthocyanins in red-flowered strawberry 'Meihong' petals and expression analysis of *MYB* gene. *Acta Horticulturae Sinica*. 2021;48(8):1470-1484. [in Chinese]. DOI: 10.16420/j.issn.0513-353x.2020-0477
iGEM Harvard. Deleting allergens from plants. 2010. Available from: https://2010.igem.org/Team:Harvard/allergy [accessed Feb. 15, 2026].
Ishibashi M., Nabe T., Nitta Y., Tsuruta H., Iduhara M., Uno Y. Analysis of major paralogs encoding the *Fra a 1* allergen based on their organ-specificity in *Fragaria* × *ananassa*. *Plant Cell Reports*. 2018;37(3):411-424. DOI: 10.1007/s00299-017-2237-6
Keldibekova M.A., Zubkova M.I. Analysis of *Fragaria ananassa* Duch. cultivars by *Rca2* and *Rpf1* genes using DNA markers. *Taurida Herald of the Agrarian Sciences*. 2023;(3(35)):103-109. [in Russian] (Келдибекова М.А., Зубкова М.И. Анализ сортов земляники садовой (*Fragaria ananassa* Duch.) по генам *Rca2* и *Rpf1* с применением ДНК-маркеров. *Таврический вестник аграрной науки.* 2023;(3(35)):103-109). DOI: 10.5281/zenodo.10135427
Kharchenko A.A., Chukhina I.G. *Fragaria* L. in the VIR collection. *VIR Bulletin*. 2024;243:85-93. [in Russian] (Харченко А.А., Чухина И.Г. *Fragaria* L. в коллекции ВИР. *Бюллетень ВИР*. 2024;(243): 85-93). URL: https://www.vir-bulletin.ru/jour/article/view/13 [дата обращения: 20.02.2026].
Khoury C.K., Gora S., Giovannini P. Global crop conservation and use metrics: strawberries (*Fragaria* L.). Bonn (Germany): Global Crop Diversity Trust; 2026. Available from: https://www.croptrust.org/resources/global-crop-conservation-and-use-metrics-strawberry/ [accessed Feb. 20, 2026].
Khudyakova A.V., Markova M.G. Screening of the strawberry collection for the presence of resistance loci *Rca2* and *08 To-f*. *Agricultural Science Euro-North-East*. 2025;26(3):546-554. [in Russian] (Худякова А.В., Маркова М.Г. Скрининг коллекции земляники садовой на наличие локусов резистентности *Rca2* и *08 To-f*. *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2025;26(3):546-554). DOI: 10.30766/2072-9081.2025.26.3.546-554
Kiseleva O.A., Nevostrueva E.Yu., Polezhaeva M.A., Savina A.O. Results of DNA screening of the strawberry collection from the Sverdlovsk breeding station of horticulture for the presence of FaOMT, FaFAD1 genes. *Bulletin of KSAU*. 2025;(11):23-34. [in Russian] (Киселева О.А., Невоструева Е.Ю., Полежаева М.А., Савина А.О. Результаты ДНК-скрининга коллекции земляники садовой Свердловской селекционной станции садоводства на присутствие генов FaOMT, FaFAD1. *Вестник КрасГАУ*. 2025;(11):23-34). DOI: 10.36718/1819-4036-2025-11-23-34
Koishihara H., Enoki H., Muramatsu M., Nishimura S., Susumu Y.U.I., Honjo M. Marker associated with powdery mildew resistance in plant of genus *Fragaria* and use thereof. US Patent No. 10,724,093. 2020.
Kurze E., Kock V., Lo Scalzo R., Olbricht K., Schwab W. Effect of the strawberry genotype, cultivation and processing on the Fra a 1 allergen content. *Nutrients*. 2018;10(7):857. DOI: 10.3390/nu10070857
Lapshin V.I., Yakovenko V.V. New promising pink-flowered strawberry hybrids for horticulture of the Krasnodar Territory. *Proceedings of the Kuban State Agrarian University*. 2024;(112):132-138. [in Russian] (Лапшин В.И., Яковенко В.В. Новые перспективные розовоцветковые гибриды земляники для садоводства Краснодарского края. *Труды Кубанского государственного аграрного университета*. 2024;(112):132-138). DOI: 10.21515/1999-1703-112-132-138
Lapshin V.I., Yakovenko V.V., Shcheglov S.N., Podorojny V.N. A methodical approach for evaluating the variability of productivity and fruit quality in the genetic collections of strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.). *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(6):675-682. [in Russian] (Лапшин В.И., Яковенко В.В., Щеглов С.Н., Подорожный В.Н. Методический подход к оценке изменчивости признаков продуктивности и качества ягод в генетических коллекциях земляники садовой (*Fragaria* × *ananassa* Duch.). *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2019;23(6):675-682). DOI: 10.18699/VJ19.540
Liu J., Wang J., Wang M., Zhao J., Zheng Y., Zhang T., Xue L., Lei J. Genome-wide analysis of the R2R3-MYB gene family in *Fragaria* × *ananassa* and its function identification during anthocyanins biosynthesis in pink-flowered strawberry. *Frontiers in Plant Science*. 2021;12:702160. DOI: 10.3389/fpls.2021.702160
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
Luk'yanchuk I.V., Lyzhin A.S., Kozlova I.I. Analysis of strawberry genetic collection (*Fragaria* L.) for *Rca2* and *Rpf1* genes with molecular markers. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(7):795-799. DOI: 10.18699/VJ18.423
Lyzhin A.S., Luk'yanchuk I.V. Assessment of the allelic state of the *FAOMT* gene in strawberry breeding forms of intervarietal origin. *Fruit growing and viticulture of South Russia*. 2023;84(6):15-23. [in Russian] (Лыжин А.С., Лукьянчук И.В. Оценка аллельного состояния гена *FaOMT* у селекционных форм земляники межсортового происхождения. *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 2023;84(6):15-23). DOI: 10.30679/2219-5335-2023-6-84-15-23
Lyzhin A.S., Luk'yanchuk I.V., Zhbanova E.V. Molecular genetic analysis of strawberry varieties and forms on *Rpf1* red stele

root rot and *Rca2* anthracnose resistance genes. *Fruit growing and viticulture of South Russia*. 2019;60(6):31-40. [in Russian] (Лыжин А.С., Лукьянчук И.В., Жбанова Е.В. Молекулярно-генетический анализ сортов и форм земляники по генам устойчивости к фитофторозному увяданию *Rpf1* и антракнозу *Rca2*. *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 2019;60(6):31-40). DOI: 10.30679/2219-5335-2019-6-60-31-40

Lyzhin A.S., Luk'yanchuk L.V. Molecular screening of FaOMT, FaFAD1, and FanAAMT loci in the aroma complex of promising strawberry forms. *Pomiculture and small fruits culture in Russia*. 2024a;78:14-20. [in Russian] (Лыжин А.С., Лукьянчук И.В. Молекулярный скрининг локусов FaOMT, FaFAD1 и FanAAMT ароматического комплекса плодов у перспективных отборных форм земляники садовой. *Плодоводство и ягодоводство России*. 2024a;78:14-20). DOI: 10.31676/2073-4948-2024-78-14-20

Lyzhin A.S., Luk'yanchuk I.V. Molecular screening of strawberry accessions from the "I.V. Michurin FSC" genetic collection by *08 To-f* powdery mildew resistance locus. *Taurida Herald of the Agrarian Sciences*. 2024b;(1(37)):103-111. [in Russian] (Лыжин А.С., Лукьянчук И.В. Молекулярный скрининг образцов земляники генетической коллекции «ФНЦ им. И.В. Мичурина» по локусу *08 To-f* устойчивости к мучнистой росе. *Таврический вестник аграрной науки*. 2024b;(1(37)):103-111). DOI: 10.5281/zenodo.10926231

Marchenko L.A. Quality attributes of garden strawberry fruits and breeding for their improvement. *Siberian Herald of Agricultural Science*. 2022;52(5):24-31. [in Russian] (Марченко Л.А. Признаки качества плодов земляники садовой и селекция на их улучшение. *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2022;52(5):24-31). DOI: 10.26898/0370-8799-2022-5-3

Markova M.G., Nevostrueva E.Yu. Selection and evaluation of initial material for garden strawberry breeding. In: *Modern Trends in the Technological Development of the Agro-Industrial Complex: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference (Sovremennye tendentsii tekhnologicheskogo razvitiya APK: materialy Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii); 2025 February 24–26; Izhevsk, Russia*. Izhevsk: Udmurt SAU; 2025. Vol. 1. p.97-106. [in Russian] (Маркова М.Г., Невоструева Е.Ю. Отбор и оценка исходного материала для селекции земляники садовой. В кн.: *Современные тенденции технологического развития АПК: материалы Международной научно-практической конференции; 24–26 февраля 2025 г.; Ижевск, Россия*. Ижевск: Удмуртский ГАУ; 2025. Т. 1. С.97-106).

Muñoz P., Roldán-Guerra F.J., Verma S., Ruiz-Velázquez M., Torreblanca R., Oiza N., Castillejo C., Sánchez-Sevilla J.F., Amaya I. Genome-wide association studies in a diverse strawberry collection unveil loci controlling agronomic and fruit quality traits. *The Plant Genome*. 2024;17:e20509. DOI: 10.1002/tpg2.20509

NARO Genebank. Plant Genetic Resources Collection. Tsukuba: National Agriculture and Food Research Organization; 2025.

Nevostrueva E.Y., Andreeva G.V. The study of varieties of strawberry in the unstable conditions of the vegetation periods of the Middle Urals. *Contemporary Horticulture.* 2018;(3(27)):90-94. [in Russian] (Невоструева Е.Ю., Андреева Г.В. Исследование сортообразцов земляники в нестабильных условиях вегетационных периодов Среднего Урала. *Современное садоводство.* 2018;(3(27)):90-94). DOI: 10.24411/2312-6701-2018-10313

Ogata K., Aizawa M., Kikuchi Y., Suzuki T., Saito T., Takayama S., Sakurai K. Breeding of 'Miyagi i3 go' a strawberry cultivar producing extremely large fruits. *Bulletin of the Miyagi Prefectural Agriculture and Horticulture Research Center*. 2024;(91):3-10. [in Japanese]. Available from: https://www.pref.miyagi.jp/soshiki/res_center/kenkyuhoukoku91.html [accessed Sept. 17, 2026].

Oh Y., Barbey C.R., Chandra S., Bai J., Fan Z., Plotto A., Pillet J., Folta 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

Pankov I.A., Bukharova A.R. On the importance of the *in vitro* method in strawberry breeding. In: A.R. Bukharova, A.V. Soloviev, T.P. Usova (eds). *Vektor razvitiya nauki: materialy Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii; 2024 February 13; Balashikha, Russia*. Balashikha: Vernadsky RSUEN; 2024. Iss. 5. p.48-52. [in Russian] (Панков И.А., Бухарова А.Р. О важности метода *in vitro* в селекции земляники садовой. В кн.: *Вектор развития науки: материалы Всероссийской научно-практической конференции; 13 февраля 2024 г.; Балашиха, Россия* / редкол.: А.Р. Бухарова, А.В. Соловьев, Т.П. Усова. Балашиха: РГУНХ им. В.И. Вернадского; 2024. Вып. 5. С.48-52).

Pankov I.A., Bukharova A.R. Analysis of genetic features of garden strawberry for adaptation of breeding strategies under climate change. In: A.R. Bukharova, A.V. Soloviev, T.P. Usova (eds). *Vektor razvitiya nauki: materialy Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii*. Balashikha: Vernadsky RSUEN; 2025. Iss. 8. p.91-97. [in Russian] (Панков И.А., Бухарова А.Р. Анализ генетических особенностей земляники садовой (*Fragaria* × *ananassa*) для адаптации селекционных стратегий в условиях изменения климата. В кн.: *Вектор развития науки: материалы Всероссийской научно-практической конференции; 23 октября 2025 г.; Балашиха, Россия/* редкол.: А.Р. Бухарова, А.В. Соловьев, Т.П. Усова. Балашиха: РГУНХ им. В.И. Вернадского; 2025. Вып. 8. С.91-97).

Pincot D.D.A., Feldmann M.J., Hardigan M.A., Vachev M.V., Henry P.M., Gordon T.R., Bjornson M., Rodriguez A., Cobo N., Famula R.A., Cole G.S., Coaker G.L., Knapp S.J. Novel *Fusarium* wilt resistance genes uncovered in natural and cultivated strawberry populations are found on three non-homoeologous chromosomes. *Theoretical and Applied Genetics*. 2022;135:2121-2145. DOI: 10.1007/s00122-022-04102-2

Senger E., Osorio S., Olbricht K., Shaw P., Denoyes B., Davik J., Predieri S., Karhu S., Raubach S., Lippi N., Höfer M., Cockerton H., Pradal C., Kafkas E., Litthauer S., Amaya I., Usadel B., Mezzetti B. Towards smart and sustainable development of modern berry cultivars in Europe. *The Plant Journal*. 2022;111(5):1238-1251. DOI: 10.1111/tpj.15876

Tarasova E.V., Kapitova I.A., Andronova N.V. Identification of the allelic state of the *Rca2* gene for resistance to anthracnose and determination of genetic relatedness in garden strawberry genotypes. *Horticulture and viticulture*. 2024;(1):5-11. [in Russian] (Тарасова Е.В., Капитова И.А., Андронова Н.В. Идентификация аллельного состояния гена *Rca2* устойчивости к антракнозу и определение генетического сходства у генотипов земляники садовой. *Садоводство и виноградарство*. 2024;(1):5-11). DOI: 10.31676/0235-2591-2024-1-5-11

USDA-ARS NCGR. U.S. Department of Agriculture – Agricultural Research Service National Clonal Germplasm Repository – Corvallis, USA. Strawberry Collection. Available from: https://www.ars.usda.gov/pacific-west-area/corvallis-or/national-clonal-germplasm-repository/ [accessed Feb. 17, 2026].

USDA-ARS GRIN. *Fragaria* L. [Data set]. Available from: https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxon/taxonomysimple [accessed Feb. 20, 2026].

Verma S., Zurn J.D., Salinas N., Mathey M.M., Denoyes B., Hancock J.F., Finn C.E., Bassil N.V., Whitaker V.M. Clarifying sub-genomic positions of QTLs for flowering habit and fruit quality in U.S. strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) breeding populations using pedigree-based QTL analysis. *Horticulture Research*. 2017;4:17062. DOI: 10.1038/hortres.2017.62

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 Q., Zhao M., Wang Z., Wu W., Qian Y. 'Zijinhong', a new red-flowered strawberry cultivar. *Acta Horticulturae Sinica.* 2017;44(12):2425-2426. [in Chinese]. DOI: 10.16420/j.issn.0513-353x.2017-0211

Whitaker V.M., Knapp S.J., Hardigan M.A., Edger P.P., Slovin J.P., Bassil N.V., Hytönen T., MacKenzie K.K., Lee S., Jung S., Main D., Barbey C.R., Verma S. A roadmap for research in octoploid strawberry. *Horticulture Research*. 2020;7:33.

DOI: 10.1038/s41438-020-0252-1
Xue L., Dai H., Lei J. Creating high polyploidy pink-flowered strawberries with enhanced cold tolerance. *Euphytica*. 2015;206(2):417-426. DOI: 10.1007/s10681-015-1499-8
Xue L., Wang J., Zhao J., Zheng Y., Wang H.-F., Wu X., Xian C., Lei J.-J., Zhong C.-F., Zhang Y.-T. Study on cyanidin metabolism in petals of pink-flowered strawberry based on transcriptome sequencing and metabolite analysis. *BMC Plant Biology*. 2019;19:423. DOI: 10.1186/s12870-019-2048-8
Yamamoto E., Ogawa S., Fujimura S.M., Yamazaki A., Matsukawa T., Matsukubo K., Hosokawa M. Breeding a new strawberry cultivar 'KD-S1' and its characteristics. *Memoirs of the Faculty of Agriculture, Kindai University*. 2024;(57):1-18. [in Japanese]. Available from: https://kindai.repo.nii.ac.jp/records/2001017 [accessed Feb. 20, 2026].
Yue J., Liu Z., Zhao C., Zhao J., Zheng Y., Zhang H., Tan C., Zhang Z., Xue L., Lei J. Comparative transcriptome analysis uncovers the regulatory roles of microRNAs involved in petal color change of pink-flowered strawberry. *Frontiers in Plant Science*. 2022;13:854508. DOI: 10.3389/fpls.2022.854508
Zhbanova E.V., Luk'yanchuk I.V., Mironov A.M. Vitamin and antioxidant value of fruits of strawberry varieties and selected forms bred at the I.V. Michurin Federal Scientific Center. *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*. 2019;(6):36-48. [in Russian] (Жбанова Е.В., Лукъянчук И.В., Миронов А.М. Витаминная и антиоксидантная ценность плодов сортов и отборных форм земляники селекции ФГБНУ «ФНЦ им. И.В. Мичурина». *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии.* 2019;(6):36-48). DOI: 10.34677/0021-342x-2019-6-36-48

## *Информация об авторах*

**Игорь Андреевич Панков,** аспирант, кафедра экологии и биоресурсов, Российский государственный университет народного хозяйства имени В.И. Вернадского (Университет Вернадского), 143907, Московская область, Балашиха, Шоссе Энтузиастов, 50, pan82@yandex.ru, https://orcid.org/0009-0002-1429-0865
**Альмира Рахметовна Бухарова,** доктор сельскохозяйственных наук, профессор, кафедра экологии и биоресурсов, Российский государственный университет народного хозяйства имени В.И. Вернадского (Университет Вернадского), 143907, Московская область, Балашиха, Шоссе Энтузиастов, 50, b.mira2025@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-9930-4463

## *Information about the authors*

**Igor A. Pankov,** Postgraduate Student, Department of Ecology and Bioresources, Vernadsky Russian State University of National Economy (Vernadsky University), 50, Shosse Entuziastov, Balashikha, Moscow Region, 143907 Russia, pan82@yandex.ru, https://orcid.org/0009-0002-1429-0865
**Almira R. Bukharova,** Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Department of Ecology and Bioresources, Vernadsky Russian State University of National Economy (Vernadsky University), 50, Shosse Entuziastov, Balashikha, Moscow Region, 143907 Russia, b.mira2025@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-9930-4463

***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 conflict of interests.

Статья поступила в редакцию 19.05.2026; одобрена после рецензирования 15.06.2026; принята к публикации 23.09.2026.
The article was submitted on 19.05.2026; approved after reviewing on 15.06.2026; accepted for publication on 23.09.2026.

**Обзорная статья**
**УДК 630:575.113:581.1**
**DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o6**

(cc) BY

# Современное состояние и перспективы генной инженерии эвкалипта *Eucalyptus* spp. в контексте промышленного лесного хозяйства

**О. В. Битюкова[1], Т. В. Матвеева[1,2], Л. А. Лутова[1]**

[1] Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

[2] Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Россия

***Автор, ответственный за переписку:*** Татьяна Валерьевна Матвеева, radishlet@gmail.com, t.v.matveeva@spbu.ru

Эвкалипт *Eucalyptus* L'Hér. spp. является одной из наиболее важных плантационных древесных культур в мире. Настоящая работа представляет собой обзор современных биотехнологических подходов к его улучшению. Ключевые преимущества эвкалипта включают высокую продуктивность, быстрый рост и широкое хозяйственное применение – от производства целлюлозы и пиломатериалов до получения эфирных масел и секвестрации углерода, а также способность адаптироваться к разнообразным почвенно-климатическим условиям и интенсивно накапливать биомассу. Однако традиционная селекция древесных пород ограничена длительными циклами размножения, высокой гетерозиготностью и сложностью прогнозирования хозяйственно ценных признаков, что делает молекулярно-генетические подходы стратегически важным инструментом ускоренной селекции эвкалипта. Коммерческое внедрение генетически модифицированного эвкалипта наиболее активно развивается в Бразилии – на сегодняшний день это единственная страна, где такие линии разрешены для промышленного выращивания. Созданы растения с повышенной продуктивностью древесины (H421), растения с устойчивостью к гербициду глифосату благодаря введению гена *cp4 epsps*, а также линии, экспрессирующие гены инсектицидных Bt-белков, нарушающих функционирование кишечного эпителия насекомых и тем самым обеспечивающие защиту от чешуекрылых вредителей. Использование таких генетических модификаций повышает стабильность плантаций, снижает потери биомассы и способствует увеличению экономической эффективности лесного производства. Дополнительные возможности открывают методы молекулярной селекции, микроклонального размножения и редактирования генома с применением технологий CRISPR/Cas, обеспечивающие более точечное изменение генетического материала. В обзоре также рассматриваются перспективы использования «метаболической инженерии» для повышения фармакологической ценности эфирных масел. Развитие этих подходов требует совершенствования протоколов трансформации и регенерации эвкалипта, а также комплексной оценки экологических рисков и нормативно-правовых аспектов использования генетически модифицированных деревьев. Совокупность биотехнологических методов формирует основу для создания высокопродуктивных, устойчивых и адаптированных форм эвкалипта, отвечающих современным требованиям устойчивого лесного хозяйства и рационального природопользования. Таким образом, генная инженерия представляет собой стратегический инструмент для создания следующего поколения высокопродуктивных и устойчивых эвкалиптовых плантаций, однако ее развитие требует сбалансированного подхода, учитывающего научные, экологические, юридические и общественные аспекты.

***Ключевые слова*:** трансгенные растения, генетически модифицированные деревья, лесное хозяйство, продуктивность древесины, экологические риски

***Благодарности:*** Обзор подготовлен по материалам курса «Генная инженерия сельскохозяйственных растений» программы подготовки магистров «Молекулярно-генетические основы агробиотехнологии», в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 126011615714-3)

***Для цитирования:*** Битюкова О.В., Матвеева Т.В., Лутова Л.А. Современное состояние и перспективы генной инженерии эвкалипта *Eucalyptus* spp. в контексте промышленного лесного хозяйства. *Биотехнология и селекция растений.* 2026;9(3):21-30. DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o6

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.

© Битюкова О.В., Матвеева Т.В., Лутова Л.А., 2026

**Review article**
**DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o6**

# Genetic engineering of *Eucalyptus* spp.: current status and prospects for industrial forestry

**Olga V. Bityukova[1], Tatiana V. Matveeva[1,2], Ludmila A. Lutova[1]**

[1] St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

[2] All-Russian Research Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

***Corresponding author:*** Tatiana V. Matveeva, radishlet@gmail.com, t.v.matveeva@spbu.ru

*Eucalyptus* L'Hér. spp. is one of the most important plantation tree crops worldwide. The present study reviews contemporary biotechnological approaches to its improvement. Key advantages of eucalyptus include high productivity, rapid growth, broad economic applications – ranging from pulp and timber production to essential oil extraction and carbon sequestration, as well as its ability to adapt to diverse soil and climatic conditions and accumulate biomass intensively. However, conventional tree breeding is constrained by long reproductive cycles, high heterozygosity, and the difficulty of predicting economically valuable traits. This makes molecular genetic approaches a strategically important tool for accelerating crop improvement. The commercial adoption of genetically modified eucalyptus is advancing most rapidly in Brazil, the only country where such lines are permitted for industrial cultivation. Among the developed varieties, H421 is distinguished by its increased wood productivity. Other lines are resistant to the herbicide glyphosate due to the *cp4 epsps* gene; and/or express genes of insecticidal Bt proteins that disrupt the functioning of the insect intestinal epithelium, providing protection against lepidopteran pests. These genetic modifications enhance plantation stability, reduce biomass loss, and contribute to the economic efficiency of forest production. Additional opportunities arise from molecular marker assisted selection, micropropagation, and genome editing using CRISPR/Cas technologies, which enable more targeted modifications of genetic material. This review also explores the potential of metabolic engineering to enhance the medicinal properties of essential oils. Developing these approaches necessitates improved protocols for the transformation and regeneration of eucalyptus, alongside a thorough assessment of environmental risks and regulatory aspects associated with genetically modified trees. A combination of biotechnological methods underpins the development of highly productive, resilient, and well-adapted eucalyptus varieties that align with modern requirements for sustainable forestry and environmental management. Consequently, genetic engineering represents a strategic tool for developing the next generation of high-yielding and stress-resistant eucalyptus plantations. However, its advancement requires a balanced approach that considers scientific, environmental, legal and societal factors.

***Keywords***: transgenic plants, genetically modified trees, forestry, wood productivity, environmental risks

***Acknowledgements:*** This review has been prepared using materials from the course "Genetic Engineering of Agricultural Plants" of the Master's program "Molecular Genetic Foundations of Agrobiotechnology", within the framework of the State Assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Theme No. 126011615714-3

***For citation:*** Bityukova O.V., Matveeva T.V., Lutova L.A. Genetic engineering of *Eucalyptus* spp.: current status and prospects for industrial forestry. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2026;9(3):21-30. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-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.

© Bityukova O.V., Matveeva T.V., Lutova L.A., 2026

## Введение

Эвкалипт *Eucalyptus* L'Hér. spp. относится к числу наиболее распространенных плантационных древесных культур мира и активно выращивается за пределами естественного ареала. Эта культура, занимающая около 25 млн гектаров от Бразилии до Китая, представляет собой уникальный объект на стыке экономики, экологии и высоких технологий (Zhang, Wang, 2021; Mao et al., 2024). Однако интенсивное монокультурное выращивание эвкалипта в новых регионах сопряжено с серьезными фитосанитарными рисками, включая поражение насекомыми-вредителями, с необходимостью химического контроля сорной растительности. Кроме того, длительные циклы традиционной селекции затрудняют оперативную адаптацию к возникающим угрозам. Именно эти проблемы становятся главным драйвером развития генной инженерии эвкалипта, позволяющей целенаправленно создавать деревья, устойчивые к насекомым и гербицидам, а также с улучшенными хозяйственными свойствами.

Опыт применения передовых технологий для улучшения древесных растений представляет многогранный интерес и для России, которая, с одной стороны, с ее обширными территориями и стратегическими целями по снижению выбросов парниковых газов в соответствии с национальными климатическими стратегиями[1] может рассматривать опыт выращивания быстрорастущих пород для целлюлозно-бумажной промышленности и связывания углерода (Shvarts et al., 2023). С другой – глобальные тренды в селекции, включая генную инженерию, напрямую касаются вопросов биобезопасности, международной торговли и стратегий адаптации к изменению климата (Wang et al., 2024). Однако сейчас в России эвкалипт изучается преимущественно в интродукционных исследованиях на Черноморском побережье Кавказа, главным образом в районе Сочи. Работы показывают, что он используется в декоративном озеленении и входит в состав интродуцированной дендрофлоры, но не формирует устойчивых насаждений и остаётся объектом экспериментального выращивания (Petrovskaya, 2012; Markova et al., 2024).

Таким образом, распространение эвкалипта и его генетическая модификация – это не абстрактный мировой тренд, а наглядный пример трансформации подходов к защите растений и управлению лесными ресурсами в XXI веке. Изучению этого опыта, его успехов и противоречий посвящен данный обзор.

## Распространение эвкалипта

Род эвкалипт насчитывает 822 вида, эти деревья встречаются преимущественно в Австралии, Новой Зеландии, Южной Африке, Папуа-Новой Гвинее, Бразилии, Китае, Индонезии и на Филиппинах. Этот род является эндемиком Австралии и соседних тихоокеанских островов, но выращивается как экзотический вид во многих тропических и субтропических регионах (Lee et al., 2024).

Эвкалипт является одним из наиболее распространенных видов широколиственных древесных растений и занимает крупнейшую площадь среди лесных плантаций в мире – около 25 млн гектаров в 95 странах, что составляет примерно 0,5% общей площади лесов мира (Zhang, Wang, 2021; Mao et al., 2024). Бразилия, Китай и Индия занимают первые три места по площади эвкалиптовых плантаций. На эти три страны приходится более половины мировых эвкалиптовых плантаций (Lee et al., 2024).

Распространение эвкалипта имеет не только пространственный, но и временной динамизм. Современные исследования с использованием моделирования экологических ниш показывают, что ареалы ключевых коммерческих видов, таких как *Eucalyptus grandis* W. Hill, *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake и *Eucalyptus tereticornis* Sm., будут расширяться в условиях изменения климата, особенно в Китае (Mao et al., 2024). Аналогичные тенденции прогнозируются и для других регионов, например, для Эфиопии, где повышение температуры может создать новые подходящие местообитания для *Eucalyptus globulus* Labill. (Mosisa et al., 2024). Это расширение, с одной стороны, открывает новые возможности для лесного хозяйства, а с другой – требует осторожного управления из-за потенциального воздействия на водные ресурсы и местные экосистемы.

Таким образом, глобальное распространение эвкалипта и прогнозируемое расширение его ареала в условиях изменения климата свидетельствуют о значительных перспективах дальнейшего использования этой быстрорастущей породы в лесном хозяйстве и плантационном выращивании.

## Использование эвкалипта

Эвкалипт исторически использовался человеком в медицинских целях. В настоящее время он применяется в фармацевтической и косметической промышленности как источник эфирных масел, получаемых из листьев, коры и стеблей (Vuong et al., 2015). Масла содержат полифенолы, флавоноиды, терпеновые соединения и дубильные вещества, что определяет их антибактериальную, противовирусную и инсектицидную активность (Wang et al., 2024). На их основе производятся средства для симптоматического лечения респираторных заболеваний, а также косметическая и парфюмерная продукция (Vecchio et al., 2016; El Shiekh et al., 2025).

[1] Об утверждении Климатической доктрины Российской Федерации: Указ Президента РФ от 26.10.2023 № 812. *Президент России: официальный сайт*. URL: http://www.kremlin.ru/acts/bank/49910 [дата обращения: 15.05.2026]

Эвкалипт также используется как источник древесины, которая характеризуется средней и высокой плотностью и относительно короткими волокнами по сравнению с хвойными породами (Dhakad et al., 2018), что обеспечивает высокую гладкость и однородность бумажной продукции. Прямые стволы подходят для производства пиломатериалов, фанеры, древесностружечных плит, строительных материалов и мебели (Girijashankar, 2011).

Широкое применение эвкалипта обусловлено его соответствием требованиям плантационных культур с коротким циклом выращивания, включая быстрый рост, прямой ствол с ограниченным ветвлением и приемлемое качество древесины. Многие виды адаптированы к различным почвенно-климатическим условиям и обладают относительной устойчивостью к вредителям и болезням (Lee et al., 2024). Наиболее широко в субтропических и средиземноморских регионах используется *Eucalyptus globulus* (Vecchio et al., 2016).

Эвкалипты играют важную роль в секвестрации углерода благодаря быстрому росту и высокой продуктивности. Короткоцикловые плантации могут связывать углерод в 2,7-4,6 раза эффективнее по сравнению с хвойными породами (Chilton et al., 2025). Такие виды, как *E. grandis* и *E. globulus*, обладают высоким потенциалом накопления углерода в агролесомелиоративных системах, а также с быстрым восстановлением биомассы в порослевых насаждениях *E. urophylla*. Важно понимать, что эффективность накопления углерода зависит от условий окружающей среды и методов ведения хозяйства (Sadono et al., 2021). Древесина эвкалипта используется для получения биоугля, твердого продукта пиролиза биомассы, который вносится в почву для улучшения её свойств и длительного связывания углерода (Nogueira et al., 2025; Oliveira et al., 2025).

Таким образом, масштабное выращивание и устойчивое управление эвкалиптовыми плантациями обеспечивают возобновляемое сырье и способствуют снижению углеродных выбросов за счёт накопления углерода.

## Необходимость генной инженерии эвкалипта и возникающие проблемы

Генная инженерия является одним из ключевых инструментов современной биотехнологии и используется для создания организмов с новыми хозяйственно ценными признаками. Получаемые линии и штаммы применяются в научных исследованиях, производстве рекомбинантных белков, сельском хозяйстве и промышленности. Так, объём мирового рынка технологий экспрессии генов, кодирующих разные белки, в 2022 году оценивался в 3,18 млрд долларов США и продолжает расти со среднегодовым темпом около 9% (Sun et al., 2023).

В сельском хозяйстве генетически модифицированные растения используются для повышения устойчивости культур к вредителям, сорнякам и другим факторам, ограничивающим сельскохозяйственное производство. По данным на 2024 год ГМ-культуры выращивались в 28 странах на площади 209,8 млн га, что на 1,7% больше по сравнению с 2023 годом. При этом 99,19% мировых посевов ГМ-культур приходится на четыре основные культуры: кукуруза, соя, хлопчатник и рапс (Li et al., 2026).

Несмотря на столь впечатляющее распространение в агросекторе, лесное древесное хозяйство, и в частности генная инженерия эвкалипта, значительно отстает в освоении этих технологий. Однако необходимость применения генной инженерии к эвкалипту продиктована фундаментальными ограничениями традиционной селекции и уникальными биологическими особенностями этой культуры (Girijashankar, 2011). Селекция эвкалипта осложняется длительным жизненным циклом древесных пород: оценка продуктивности и качества древесины может занимать десятилетия, тогда как у однолетних культур смена поколений происходит значительно быстрее (van Nocker, Gardiner, 2014; Wang et al., 2024). Ведутся исследования по ускорению селекции эвкалипта. Например, показано, что применение верхушечной прививки молодых сеянцев в сочетании с физиологически зрелыми подвоями и обработкой регуляторами роста позволяет значительно ускорить переход к цветению и плодоношению, что в перспективе сокращает селекционный цикл с нескольких лет до нескольких месяцев (Castro et al., 2021). Дополнительные трудности связаны с высокой гетерозиготностью, сложной генетической структурой и межвидовыми репродуктивными барьерами, затрудняющими получение стабильных комбинаций хозяйственно ценных признаков традиционными методами (Sharma et al., 2023). В связи с этим для эвкалипта активно развиваются биотехнологические подходы, включая молекулярную селекцию, микроклональное размножение и генетическую трансформацию, позволяющие ускорить селекционный процесс и повысить точность отбора (Sumathi, Yasodha, 2014; Kendurkar, Rangaswamy, 2018).

Исторически молекулярно-генетические и генно-инженерные технологии были ориентированы преимущественно на сельскохозяйственные культуры (соя, кукуруза, рис), тогда как древесные породы, включая эвкалипт, оставались менее изученными из-за технических ограничений и длительных циклов селекции. Современные обзоры показывают, что генетическая трансформация эвкалипта по-прежнему характеризуется низкой эффективностью и сложностью регенерации трансформированных растений, что сдерживает её широкое применение даже в исследовательских целях (Wang et al., 2024; Zhan, 2024).

В протоколах регенерации и генетической трансформации эвкалипта в качестве эксплантов используют гипокотили, семядоли, листья, сегменты стебля и пазушные почки, при этом на эффективность регенерации существенное влияние оказывает генотип (Sharma et al., 2023; Wang et al., 2024). Регенерация эвкалипта проис-

ходит через органогенез или соматический эмбриогенез. У *E. globulus* эмбриогенная способность выше у молодых тканей и у зрелых зиготических эмбрионов, тогда как у взрослых деревьев она значительно ниже (Pinto et al., 2002; Corredoira et al., 2015). Эффективность соматического эмбриогенеза остаётся генотип-зависимой и требует оптимизации состава среды и фитогормонов для конкретных видов и клонов (Pinto et al., 2008).

При агробактериальной трансформации важны не только интеграция Т-ДНК, но и сохранение регенерационного потенциала эксплантов в период культивирования, что существенно влияет на эффективность получения трансгенных растений (Zhou et al., 2022). Низкая эффективность процесса обусловлена ограниченной каллусообразующей способностью древесных эксплантов, замедленным органогенезом, зависимостью от состава питательных сред, длительными циклами *in vitro* и чувствительностью к антибиотикам и стрессовым факторам (Zhou et al., 2022; Wang et al., 2024). Дополнительным ограничением является высокое содержание фенольных соединений у эвкалипта, вызывающее окислительное потемнение тканей и подавление регенерации, что снижает выход трансгенных растений (Li et al., 2010; Maharjan et al., 2025). Показано, что различия в регенерации каллуса у *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. и гибридов *E. grandis* × *E. urophylla* связаны также с эпигенетическими механизмами, включая метилирование ДНК и регуляцию гормональных и MAPK-сигнальных путей (Chen et al., 2026). В частности, для гибрида *E. urophylla* × *E. grandis* оптимизация параметров инфекции, ко-культивирования и гормональной среды позволила достичь частоты трансформации более 60% (Wang et al., 2023). Эффективность процесса также зависит от индукции *vir*-генов ацетосирингоном и снижения окислительного стресса за счет антиоксидантов (Alcantara et al., 2011; Liu et al., 2025). В целом, частота трансформации варьирует от единичных значений до ~40%, что свидетельствует о важности оптимизации протоколов с учетом генотипических особенностей растений (Sharma et al., 2023; Wang et al., 2024).

Ряд авторов отмечают, что при создании трансгенных сортов эвкалипта сохраняются риски утечки трансгенов в природные популяции через пыльцу, и как следствие потенциального воздействия на биоразнообразие в регионах интродукции. Для коммерчески одобренного эвкалипта H421 в Бразилии долгосрочные наблюдения не выявили значимых неблагоприятных эффектов, однако вопросы экологической безопасности продолжают обсуждаться (Pinheiro et al., 2023).

Использование ГМ-деревьев, особенно лесных культур, сопряжено с более жёстким регулированием и общественным сопротивлением по сравнению с введением в культуру сельскохозяйственных ГМ-растений, что замедляет полевые испытания и коммерциализацию, особенно в Европе (Matola et al., 2025). В результате коммерческое выращивание ГМ-эвкалипта ограничено использованием отдельных линий в Бразилии (Pinheiro et al., 2023).

Несмотря на это, генная инженерия рассматривается как важный инструмент ускоренного улучшения эвкалипта, позволяющий целенаправленно вводить гены, связанные с устойчивостью к вредителям, гербицидам, изменением состава древесины и скоростью роста, минуя длительные циклы традиционной селекции. Кроме того, трансгенез и CRISPR используются для функционального анализа генов, связанных с развитием древесины и устойчивостью к стрессам у древесных растений (Wang et al., 2021; Wang et al., 2024). Однако внедрение таких технологий по-прежнему ограничивается сочетанием технических, экологических и регуляторных факторов.

## Коммерческие направления генной инженерии эвкалипта

История генной инженерии эвкалипта началась в 1990-х годах, когда были предприняты первые попытки трансформации с использованием природного генетического инженера – почвенной бактерии *Agrobacterium tumefaciens* Smith, Townsend, Conn (Bevan et al., 1983, Herrera-Estrella et al., 1983). Этот биологический метод, основанный на естественном процессе переноса ДНК от бактерии к растению, остаётся наиболее распространённым и эффективным для эвкалипта благодаря относительно высокой эффективности и стабильности встраивания чужеродных генов. В дополнение к нему для трудно преобразуемых генотипов или в исследовательских целях применяются физические методы, такие как биолистика и электропорация (Wang et al., 2024). Ключевым технологическим барьером долгое время являлся этап регенерации целого растения из единичной трансформированной клетки, что требовало разработки сложных протоколов *in vitro* для каждого целевого вида или гибрида. Однако развитие этих технологий сделало возможным практическое применение генетически модифицированного эвкалипта в коммерческом лесоводстве. В настоящее время коммерческие посадки ГМ-эвкалипта существуют только в Бразилии, где эвкалиптовые насаждения занимают около 7,5 млн га, или примерно 75% площади культивируемых лесных насаждений страны (Pinheiro et al., 2023).

Тремя наиболее проработанными направлениями генной инженерии эвкалипта являются увеличение объема древесины, устойчивость к насекомым-вредителям и устойчивость к гербицидам:

**1. Увеличенный объем древесины.** Повышение продуктивности – ключевая задача селекции. Хотя классические генетические исследования выявили множество локусов количественных признаков (QTL), влияющих на рост и плотность древесины у гибридов *E. grandis* и *E. urophylla* (Kullan et al., 2012), генная инженерия позволяет напрямую влиять на физиологические механизмы.

Первой линией генно-модифицированного эвкалип-

та, одобренной для коммерческого использования, стала линия H421. Растения этой линии содержат ген, отвечающий за регулирование синтеза эндоглюканаз – семейства гликозидгидролаз, участвующих в развитии и ремоделировании клеточной стенки во время роста (Pinheiro et al., 2023). Данная линия была создана в 2000 году компанией FuturaGene (Бразилия) с помощью введения гена *cel1*, кодирующего 1,4-β-эндоглюканазу *Arabidopsis thaliana*, в гибрид *E. grandis* × *E. urophylla* методом агробактериальной трансформации. Продуктом трансгена является фермент, участвующий в ремоделировании клеточной стенки. Этот фермент способствует «разрыхлению» клеточных стенок во время роста, что облегчает их растяжение и, как следствие, приводит к увеличению скорости роста и итогового объема биомассы. Полевые испытания показали, что линия H421 демонстрирует увеличение объема древесины на 20-30% по сравнению с обычными коммерческими клонами (Pinheiro et al., 2023).

**2. Устойчивость к гербицидам.** Контроль сорняков критически важен на ранних стадиях роста эвкалипта, так как конкуренция за ресурсы может снизить продуктивность древостоя на 55-91% (Mota Porto et al., 2024). Глифосат – наиболее широко применяемый для этого гербицид, но природная чувствительность эвкалипта к нему делает любые отклонения от необходимой дозы опасными (Cerveira Jr. et al., 2020; Mota Porto et al., 2024). Генно-инженерное решение этой проблемы основано на введении в геном эвкалипта бактериального гена *cp4 epsps* из *Agrobacterium tumefaciens*.

Компания FuturaGene/Suzano S.A. в Бразилии разработала и получила одобрение на коммерческое использование ГМ-эвкалипта с глифосат-толерантностью. Глифосат блокирует ключевой фермент шикиматного пути – 5-енолпирувилшикимат-3-фосфат синтазу (EPSPS) эвкалипта, что приводит к остановке синтеза ароматических аминокислот и гибели растения. Продукт бактериального гена *cp4 epsps* – это альтернативная версия фермента EPSPS, которая сохраняет высокое сродство к естественному субстрату, но имеет низкое сродство к глифосату. Таким образом, в присутствии гербицида бактериальный фермент выполняет свою функцию, позволяя растению нормально развиваться (Mota Porto et al., 2024).

В процессе получения эвкалипта устойчивого к глифосату были созданы линии 75lK022, 955S019 и 955S024 на основе *E. urophylla*. Проведенные исследования показали, что обработка этих линий глифосатом в дозе до 3,6 кг кислотного эквивалента на гектар, не приводит к снижению биомассы или фотосинтетической активности по сравнению с необработанными растениями. Это позволяет проводить гербицидную обработку непосредственно плантаций, упрощая борьбу с сорняками и снижая издержки производства, возникающие при выращивании растений (Avisar et al., 2023; Mota Porto et al., 2024).

**3. Устойчивость к чешуекрылым насекомым.** Главным чешуекрылым (*Lepidoptera*) вредителем эвкалиптовых плантаций в Бразилии является коричневая пяденица *Thyrinteina arnobia* Stoll in Cramer, вспышки численности которой могут снижать объем древесины на 9-19% за цикл роста и ухудшать ее качество (Avisar et al., 2024). Для защиты растений используется стратегия, аналогичная Bt-кукурузе и Bt-хлопку. В геном эвкалипта вводят один или несколько генов *Cry* из почвенной бактерии *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt). Эти гены кодируют белки-протоксины (δ-эндотоксины). В кишечнике чувствительных насекомых-вредителей, таких как *T. arnobia*, проглоченный белок Cry подвергается частичному протеолизу и тем самым активируется, а затем, связывается со специфичными рецепторами и образует поры в клеточных мембранах, что приводит к гибели насекомого. Для человека, животных и большинства нецелевых организмов эти белки безопасны (Avisar et al., 2024).

Компанией FuturaGene/Suzano S.A. (Бразилия) была создана и одобрена для коммерческого использования в Бразилии линия эвкалипта 152lK059, экспрессирующая гены трёх различных Bt-токсинов: Cry1Ab, Cry2Aa и Cry1Bb. Эти белки различаются по аминокислотным последовательностям, спектру связываемых кишечных рецепторов и механизму взаимодействия с мембранами клеток насекомых. Cry1Ab и Cry1Bb относятся к семейству Cry1 и в первую очередь активны против чешуекрылых, однако отличаются по сайтам связывания и чувствительности для отдельных видов вредителей, тогда как Cry2Aa характеризуется более широкой активностью и иным рецепторным профилем. Совмещение токсинов с различными мишенями в одной генетической конструкции приводит к пирамидированию генов, что повышает эффективность контроля за численностью *T. arnobia* и существенно снижает риск формирования устойчивости у популяций вредителя (Avisar et al., 2024). Совмещение всех *Cry*-генов в одном сайте вставки Т-ДНК дополнительно упрощает селекцию, размножение и поддержание стабильности трансгенной линии.

Таким образом, генная инженерия предоставила конкретные инструменты для решения актуальных агротехнических задач, и некоторые из разработанных линий эвкалипта уже прошли полный цикл испытаний и вышли на стадию коммерческого использования.

## Тенденции в генной инженерии эвкалипта

Современный этап развития генной инженерии эвкалипта характеризуется переходом от единичных демонстрационных трансгенных линий к формированию целевых программ по созданию древесных культур с заданными хозяйственно ценными признаками (Wang et al., 2024). Если первая коммерческая линия H421 была ориентирована на ускорение роста и увеличение выхода древесины (Pinheiro et al., 2023), то в последние годы спектр разрабатываемых признаков значительно рас-

ширился. Направлениями современных исследований в области генной инженерии эвкалипта являются: оптимизация уже существующих протоколов, изменение структуры клеточной стенки, состава эфирных масел, достижение различных типов устойчивости (Matola et al., 2025).

Применение технологии CRISPR/Cas в исследованиях эвкалипта позволило перейти к точечному редактированию генов. Получение целевых нокаутов и направленных мутаций существенно ускоряет функциональную верификацию генов по сравнению с традиционной трансформацией. Важным методологическим шагом в развитии генной инженерии эвкалипта стала работа, в которой продемонстрирована возможность эффективного применения системы CRISPR/Cas на модели «бородатых» корней эвкалипта. Авторы использовали трансформацию, опосредованную *Rhizobium rhizogenes* (Young et al., 2001) для получения композитных растений, что позволило обойти ограничения низкой эффективности трансформации древесных видов. В качестве целевых объектов были выбраны гены, связанные с формированием древесины, включая гены, кодирующие CCR1 – ключевой фермент биосинтеза лигнина, и IAA9A, регулятор ауксин-зависимых процессов в камбии и ксилеме. Редактирование с использованием двух направляющих РНК обеспечивало высокую частоту мутаций: все трансформированные корни несли мутации как минимум в одной аллели гена, кодирующего CCR1, а большинство линий по гену, кодирующему IAA9A, были гетероаллельными. Гистохимический анализ показал снижение содержания лигнина и изменение структуры сосудистых элементов, подтверждая роль CCR1 в формировании клеточной стенки. Данная работа демонстрирует, что «бородатые» корни могут служить эффективной системой для быстрой валидации активности генов эвкалипта и предварительной оценки результатов геномного редактирования в процессе получения стабильных трансгенных линий (Dai et al., 2020).

Генетические подходы к улучшению эвкалипта в большой степени ориентированы на изучение и модификацию пути биосинтеза лигнина, определяющего механические свойства и технологическую пригодность древесины. Комплексные геномные исследования выявили полный набор генов, участвующих в образовании лигнина у *E. grandis*, включая ферменты CCR (cinnamoyl-CoA reductase), CCoAOMT (caffeoyl-CoA O-methyltransferase) и CAD (cinnamyl alcohol dehydrogenase), что делает кодирующие их гены потенциальными мишенями для генетического редактирования с целью улучшения качества древесины для целлюлозно-бумажной промышленности. Редактирование этих и других генов биосинтеза лигнина проводилось на другом древесном растении – *Populus trichocarpa* Torr. & A. Gray ex Hook. (Carocha et al., 2015). Авторы выбрали 21 ген биосинтеза и вывели семь стратегий редактирования генома, направленных на одновременное изменение до шести генов, получив 174 отредактированных варианта тополя. Редактирование с использованием технологии CRISPR/Cas увеличило соотношение углеводов к лигнину в древесине до 228% по сравнению с диким типом, что привело к более эффективному производству целлюлозы. Полученные результаты позволяют допустить, что тополь волосистоплодный может служить моделью для дальнейшей работы по генно-инженерному изменению эвкалипта.

Изучение биосинтетических путей терпенов и эфирных масел в эвкалипте, фундаментальные исследования их генетического контроля создают основу для разработки конкретных стратегий «метаболической инженерии», то есть изменения генов, отвечающих за метаболические процессы. Основной интерес для коммерческой селекции представляют увеличение выхода и модификация химического профиля эвкалиптового масла, богатого такими ценными компонентами, как 1,8-цинеол (эвкалиптол), α-пинен и лимонен, которые определяют его антимикробные, противовоспалительные и ароматические свойства. Полногеномный анализ семейства генов терпенсинтаз (TPS) в *E. grandis* выявил кластеры генов, ответственных за синтез моно- и сесквитерпенов, с чёткой тканеспецифической экспрессией (Kullan et al., 2012). Это указывает на тесную связь между локализацией экспрессии конкретных TPS-генов и накоплением определённых терпенов в листьях или коре.

Дополнительным шагом к практической реализации таких подходов стали исследования ассоциативной генетики эфирномасличных признаков у эвкалипта. Так, в одной из работ на примере *Eucalyptus loxophleba* Benth. были выявлены конкретные аллельные варианты генов терпенового пути, статистически связанные с вариацией выхода эфирного масла и концентрацией ключевых компонентов, включая 1,8-цинеол и α-пинен (Padovan et al., 2017). Авторы показали, что наибольший вклад в формирование химического профиля масла вносят гены последних этапов MEP-пути (от англ. methyl-erythritol-phosphate), контролирующие этапы образования предшественников монотерпенов в хлоропластах у растений. Идентификация функционально значимых генетических вариантов соответствующих ферментов формирует основу для целевого геномного редактирования или для трансгенной сверхэкспрессии генов и разработки линий эвкалипта с повышенным выходом эфирных масел и заданным их составом.

Исследования ведутся и в области повышения устойчивости эвкалиптовых деревьев к насекомым-вредителям. В одной из работ с использованием полногеномного анализа ассоциаций (GWAS, от англ. Genome-Wide Association Studies) исследована устойчивость *E. grandis* к галловой осе *Leptocybe invasa* Fisher et La Salle – одному из наиболее опасных вредителей эвкалиптовых плантаций (Mhoswa et al., 2020). На основе анализа SNP-маркеров у нескольких сотен генотипов были выявлены районы генома, статистически связанные с уровнем повреждения растений, а также гены-кандидаты защитного ответа, включая представителей семейств NBS-

LRR и регуляторы сигнальных путей иммунитета. Полученные результаты демонстрируют полигенную природу устойчивости к вредителю и создают основу для маркер-опосредованной селекции и последующих генно-инженерных подходов к повышению резистентности эвкалипта.

Современные тенденции в генетической инженерии эвкалипта и его выращивании включают не только разработку устойчивых к вредителям трансгенных линий, но и интеграцию биотехнологий в системы лесного хозяйства и устойчивого управления лесами. В условиях России потенциальный интерес представляет создание адаптированных к умеренному и субтропическому климату форм эвкалипта с использованием методов генетической трансформации, микроклонального размножения и молекулярной селекции. Особое значение при этом имеет повышение морозостойкости, поскольку большинство коммерчески значимых видов и гибридов эвкалипта чувствительны к низким температурам. Показано, что *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage обладает более высокой способностью к холодовой акклимации по сравнению с *E. grandis*, а *Eucalyptus gunnii*. Hook. F. способен переносить температуры до −14°C после закаливания, что делает эти виды перспективными донорами признаков холодоустойчивости для селекционных и генно-инженерных программ (Scarascia-Mugnozza et al., 1989; Oberschelp et al., 2022). Реализация таких подходов может способствовать формированию научно обоснованной модели внедрения биотехнологических древесных культур в российскую лесную отрасль (Shvarts et al., 2023).

Таким образом, современная генная инженерия эвкалипта развивается по нескольким взаимосвязанным направлениям: совершенствование технологий трансформации и регенерации, функциональная геномика и геномное редактирование, модификация состава древесины и вторичного метаболизма, а также повышение устойчивости к биотическим факторам. Общей тенденцией является переход от отдельных трансгенных конструкций к комплексному использованию геномных, транскриптомных и биотехнологических подходов для направленного управления хозяйственно ценными признаками древесных растений.

## Заключение

Эвкалипт, являющийся одной из наиболее распространённых плантационных древесных культур мира, в настоящее время выступает важным объектом генетических и биотехнологических исследований. Традиционное лесное хозяйство, сталкиваясь с многолетними циклами селекции, генетической сложностью рода и растущими экологическими вызовами, заинтересовано в точных и быстрых решениях. Генная инженерия является одним из подходов к решению этих задач, что наглядно демонстрирует опыт Бразилии – единственной страны, где ГМ-эвкалипт – линии с увеличенной биомассой, устойчивостью к гербицидам и насекомым – одобрен для коммерческого использования.

За последние десятилетия достигнут существенный прогресс в развитии технологий трансформации и редактирования генома эвкалипта: от первых успехов трансформации в 1990-х годах до создания комплексных «пирамид» генов ценных признаков и перспектив редактирования генома CRISPR/Cas для направленной модификации свойств древесины и метаболических процессов. Эти разработки направлены не только на повышение экономической эффективности: урожайность, защита от потерь, но и на решение экологических задач, таких как оптимизация использования земель и усиление роли эвкалиптовых плантаций как поглотителей углерода.

## References/Литература


Alcantara G.B., Bespalhok J.C.F., Quoirin M. Organogenesis and transient genetic transformation of the hybrid *Eucalyptus grandis* × *Eucalyptus urophylla*. *Scientia Agricola*. 2011;68(2):246-251. DOI: 10.1590/S0103-90162011000200016

Avisar D., Dias T.B., dos Santos A.A., Galan M.P., Gonsalves J.M.W., Graça R.N., Livne S., Manoeli A., Drezza T.R., Porto A.C.M., Rocha C.S., Pinheiro A.C. Safety of genetically modified glyphosate-tolerant eucalyptus designed for integrated weed management. *Advances in Weed Science.* 2023;41:e020230032. DOI: 10.51694/AdvWeedSci/2023;41:00019

Avisar D., Manoeli A., Dos Santos A.A., Porto A.C.D.M., Rocha C.S., Zauza E., Gonzalez E.R., Soliman E., Gonsalves J.M.W., Bombonato L., Galan M.P., Domingues M.M., Candelaria M.C., Mafia R., Graça R.N., Azulay S., Livne S., Dias T.B., Drezza T.R., Silva W.J., Pinheiro A.C. Genetically engineered eucalyptus expressing pesticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* for insect resistance: a risk assessment evaluation perspective. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology.* 2024;12:1322985. DOI: 10.3389/fbioe.2024.1322985

Bevan M.W., Flavell R.B., Chilton M.D. A chimaeric antibiotic resistance gene as a selectable marker for plant cell transformation. *Nature.* 1983;304(5922):184-187. DOI: 10.1038/304184a0

Carocha V., Soler M., Hefer C., Cassan-Wang H., Fevereiro P., Myburg A.A., Paiva J.A.P., Grima-Pettenati J. Genome-wide analysis of the lignin toolbox of *Eucalyptus grandis*. *New Phytologist.* 2015;206(4):1297-1313. DOI: 10.1111/nph.13313

Castro C.A.O., Santos G.A., Takahashi E.K., Nunes A.C.P., Souza G.A., Resende M.D.V. Accelerating *Eucalyptus* breeding strategies through top grafting applied to young seedlings. *Industrial Crops and Products.* 2021;171:113906. DOI: 10.1016/j.indcrop.2021.113906

Cerveira Jr. W.R., Santos da Costa Y.K., Carbonari C.A., Duke S.O., Aguiar Alves P.L., Bianco De Carvalho L. Growth, morphological, metabolic and photosynthetic responses of clones of eucalyptus to glyphosate. *Forest Ecology and Management.* 2020;470-471:118218. DOI: 10.1016/j.foreco.2020.118218

Chen Y., Li X., Wang H., Zhang L., Liu J., Zhao M., Chen H. Methylome and transcriptome analysis reveals differences in callus development and plantlet regeneration capacity between two *Eucalyptus* species. *Plants.* 2026;15(5):783. DOI: 10.3390/plants15050783

Chilton K., Campoe O., Allan N., Hinkle H. Increasing carbon sequestration, land-use efficiency, and building decarbonization with short rotation *Eucalyptus*. *Sustainability*. 2025;17(3):1281. DOI: 10.3390/su17031281

Corredoira E., Ballester A., Ibarra M., Vieitez A.M. Induction of somatic embryogenesis in explants of shoot cultures established from adult *Eucalyptus globulus* and *E. saligna* × *E. maidenii* trees. *Tree Physiology*. 2015;35(6):678-690. DOI: 10.1093/treephys/tpv028

Dai Y., Hu G., Dupas A., Medina L., Blandels N., San Clemente H., Ladouce N., Badawi M., Hernandez-Raquet G., Mounet F., Grima-Pettenati J., Cassan-Wang H. Implementing the CRISPR/

Cas9 technology in *Eucalyptus* hairy roots using wood-related genes. *International Journal of Molecular Sciences.* 2020;21(10):3408. DOI: 10.3390/ijms21103408
Dhakad A.K., Pandey V.V., Beg S., Rawat J.M., Singh A. Biological, medicinal and toxicological significance of *Eucalyptus* leaf essential oil: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 2018;98(3):833-848. DOI: 10.1002/jsfa.8600
El Shiekh R.A., Atwa A.M., Elgindy A.M., Mustafa A.M., Senna M.M., Alkabbani M.A., Ibrahim K.M. Therapeutic applications of eucalyptus essential oils. *Inflammopharmacology*. 2025;33(1):163-182. DOI: 10.1007/s10787-024-01588-8
Girijashankar V. Genetic transformation of eucalyptus. *Physiology and Molecular Biology of Plants.* 2011;17(1):9-23. DOI: 10.1007/s12298-010-0048-0
Herrera-Estrella L., Depicker A., Van Montagu M., Schell J. Expression of chimaeric genes transferred into plant cells using a Ti-plasmid-derived vector. *Nature.* 1983;303(5914):209-213. DOI: 10.1038/303209a0
Kendurkar S.V., Rangaswamy M. Genetic transformation in eucalyptus. In: S.S. Gosal, S.H. Wani (eds). *Biotechnologies of Crop Improvement, Volume 2: Transgenic Approaches.* Cham (Switzerland): Springer International Publishing AG; 2018. p.335-366. DOI: 10.1007/978-3-319-90650-8_13
Kullan A.R.K., van Dyk M.M., Hefer C.A., Jones N., Kanzler A., Myburg A.A. Genetic dissection of growth, wood basic density and gene expression in interspecific backcrosses of *Eucalyptus grandis* and *E. urophylla*. *BMC Genetics.* 2012;13:60. DOI: 10.1186/1471-2156-13-60
Lee S.H., Dahali R., Nik Hashim N.H., Kusin M., Mahmud S.Z., Kamarudin N., Abdul Jalil A.M., Lubis M.A.R. Eucalyptus plantation worldwide, its hybridization and cloning development. In: S.H. Lee, W.C. Lum, P. Antov, L. Krišťák, M.A.R. Lubis, W. Fatriasari (eds). *Eucalyptus: engineered wood products and other applications.* Singapore: Springer Nature Singapore; 2024. p.1-15. DOI: 10.1007/978-981-99-7919-6_1
Li H., Cheng X., Wang L., Xie P., Zhang H., Yang Y., Liu T., Wang Y. Global trends in the commercialization of genetically modified crops in 2024. *Journal of Integrative Agriculture*. 2026;25(4):1307-1315. DOI: 10.1016/j.jia.2025.11.037
Li Z.-H., Wang Q., Ruan X., Pan C-D., Jiang D.-A. Phenolics and plant allelopathy. *Molecules*. 2010;15(12):8933-8952. DOI: 10.3390/molecules15128933
Liu Y., Wang C., Ouyang L., Li L., Su M. Analysis of transcriptome and differential expression of different types of calli of *Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus grandis*. *PLoS ONE.* 2025;20(5):e0322224. DOI: 10.1371/journal.pone.0322224
Maharjan B.K., Islam M.T., Muzaffar A., Tschaplinski T.J., Tuskan G.A., Chen J.-G., Yang X. Woody Plant transformation: current status, challenges, and future perspectives. *Plants.* 2025;14(22):3420. DOI: 10.3390/plants14223420
Mao X., Zheng H., Luo G., Liao S., Wang R., Tang M., Chen H. Climate change favors expansion of three *Eucalyptus* species in China. *Frontiers in Plant Science.* 2024;15:1443134. DOI: 10.3389/fpls.2024.1443134
Markova Ye.N., Yevlash A.Ya., Klemeshova K.V. Introduction of *Eucalyptus* sp. in the conditions of Sochi Black Sea region. *Subtropical and ornamental horticulture.* 2024;91:130-147. [in Russian] (Маркова Е.Н., Евлаш А.Я., Клемешова К.В. Интродукция *Eucalyptus* sp. в условиях Черноморского побережья Сочи. *Субтропическое и декоративное садоводство.* 2024;91:130-147). DOI: 10.31360/2225-3068-2024-91-130-147
Matola S.H., Li J., Sun M., Yang L., Zhuang W., Yang J. Advances in genetic engineering techniques for improved forest trees: applications in biomass, stress resilience and carbon sequestration. *International Journal of Molecular Sciences.* 2025;26(20):10192. DOI: 10.3390/ijms262010192
Mhoswa L., O'Neill M.M., Mphahlele M.M., Oates C.N., Payn K.G., Slippers B., Myburg A.A., Naidoo S. A genome-wide association study for resistance to the insect pest *Leptocybe invasa* in *Eucalyptus grandis* reveals genomic regions and positional candidate defense genes. *Plant and Cell Physiology.* 2020;61(7):1285-1296. DOI: 10.1093/pcp/pcaa057
Mosisa G.B., Tassie N., Adula M. Current and future distribution of *Eucalyptus globulus* under changing climate in Ethiopia: implications for forest management. *Environmental Systems Research.* 2024;13:4. DOI: 10.1186/s40068-024-00332-z
Mota Porto A.C., Gonsalves J.M.W., Vieira P.A., Perek M., Lima D.C., Nagayschi M., Drezza T.R., Pinheiro A.C., de Mello E.J., Avisar D., Graça R.N. Characterization of glyphosate-tolerant genetically modified eucalyptus. *GM Crops & Food.* 2024;15(1):361-373. DOI: 10.1080/21645698.2024.2429200
Nogueira C.O.S., Pereira V.A., Latorre F.L., Paula R.J., Dutra Junior A.T., Almeida I.A., Ferreira O.E., Lima E.N., Bezerra A.C.S., Machado A.R.T. Pilot-scale production of biochar from eucalyptus wood chips for carbon sequestration. *Carbon Neutral Systems.* 2025;1(1):15. DOI: 10.1007/s44438-025-00015-x
Oberschelp G.P.J., Morales L.O., Montecchiarini M.L., Castagnaro A.P., Lara M.V. Harder, better, faster, stronger: Frost tolerance of *Eucalyptus benthamii* under cold acclimation. *Plant Physiology and Biochemistry.* 2022;186:64-75. DOI: 10.1016/j.plaphy.2022.06.022
Oliveira G.G., Queiroz T.B., Bullock B.P., Coelho J.C., Hakamada R.E., Guerrini I.A. Full-tree biomass, root carbon stock, and nutrient use efficiency across ages in *Eucalyptus* stands under seedling and coppice systems. *Plants.* 2025;14(9):1382. DOI: 10.3390/plants14091382
Padovan A., Webb H., Mazanec R., Grayling P., Bartle J., Foley W.J., Külheim C. Association genetics of essential oil traits in *Eucalyptus loxophleba*: explaining variation in oil yield. *Molecular Breeding.* 2017;37(6):73. DOI: 10.1007/s11032-017-0667-z
Petrovskaya P.A. The planting of tress in the bushes on the Black sea coast of Krasnodar territory (by the example of Sochi). *RUDN Journal of Agronomy and Animal Industries.* 2012;(S5):85-91. [in Russian] (Петровская П.А. Посадки древесных растений на Черноморском побережье Краснодарского края (на примере г. Сочи). *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство*, 2012;(S5):85-91).
Pinheiro A.C., dos Santos A.A., Avisar D., Gonsalves J.M., Galan M.P., Abramson M., Barimboim N., Abrahão O., Graça R.N., Drezza T.R., Silva W. Five-years post commercial approval monitoring of eucalyptus H421. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology.* 2023;11:1257576. DOI: 10.3389/fbioe.2023.1257576
Pinto G., Park Y.-S., Neves L., Araújo C., Santos C. Genetic control of somatic embryogenesis induction in *Eucalyptus globulus* Labill. *Plant Cell Reports*. 2008;27(6):1093-1101. DOI: 10.1007/s00299-008-0532-y
Pinto G., Santos C., Neves L., Araújo C. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Eucalyptus globulus* Labill. *Plant Cell Reports.* 2002;21:208-213. DOI: 10.1007/s00299-002-0505-5
Sadono R., Wardhana W., Idris F., Wirabuana P.Y.A.P. Carbon storage and energy production of *Eucalyptus urophylla* developed in dryland ecosystems at East Nusa Tenggara. *Journal of Degraded and Mining Lands Management*. 2021;9(1):3107-3114. DOI: 10.15243/jdmlm.2021.091.3107
Scarascia-Mugnozza G., Valentiny R., Kuzminsky E., Giordano E. Freezing mechanisms, acclimation processes and cold injury in *Eucalyptus* species planted in the Mediterranean region. *Forest Ecology and Management.* 1989;29(1-2):81-94. DOI: 10.1016/0378-1127(89)90057-1
Sharma V., Ankita, Karnwal A., Sharma S., Kamal B., Jadon V.S., Gupta S., Sivanasen I. A comprehensive review uncovering the challenges and advancements in the in vitro propagation of *Eucalyptus* plantations. *Plants*. 2023;12(17):3018. DOI: 10.3390/plants12173018
Shvarts E.A., Karpachevskiy M.L., Shmatkov N.M., Baybar A.S. Reforming forest policies and management in Russia: problems and challenges. *Forests.* 2023;14(8):1524. DOI: 10.3390/f14081524
Sumathi M., Yasodha R. Microsatellite resources of *Eucalyptus*: current status and future perspectives. *Botanical Studies*. 2014;55:73. DOI: 10.1186/s40529-014-0073-3
Sun Y., Guo D., Zhang L., Zhao X., Liu Y. Recent advances in microbial protein expression systems and industrial applications. Microbial

*Cell Factories.* 2023;22:184. DOI: 10.1186/s12934-023-02184-1
van Nocker S., Gardiner S.E. Breeding better cultivars, faster: applications of new technologies for the rapid deployment of superior horticultural tree crops. *Horticulture Research*. 2014;1:14022. DOI: 10.1038/hortres.2014.22
Vecchio M.G., Loganes C., Minto C. Beneficial and healthy properties of eucalyptus plants: a great potential use. *The Open Agriculture Journal*. 2016;10:52-57. DOI: 10.2174/1874331501610010052
Vuong Q.V., Chalmers A.C., Bhuyan D.J., Bowyer M.C., Scarlett C.J. Botanical, phytochemical, and anticancer properties of the *Eucalyptus* species. *Chemistry & Biodiversity.* 2015;12(6):907-924. DOI: 10.1002/cbdv.201400327
Wang W.F. Genome editing improvement study of *Eucalyptus* wood quality traits. *Molecular Plant Breeding.* 2024;15(5):317-327. DOI: 10.5376/mpb.2024.15.0030
Wang X., Chen S., Zhang H., Luo P., Zhou F., Zeng B., Xu J., Fan C. *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of the most widely cultivated superior clone *Eucalyptus urophylla* × *E. grandis* DH32-29 in Southern China. *Frontiers in Plant Science*. 2023;13:1011245. DOI: 10.3389/fpls.2022.1011245
Wang Y., Wu Z., Li X., Shang X. Regeneration and genetic transformation in *Eucalyptus* species: Current research and future perspectives. *Plants.* 2024;13(20):2843. DOI: 10.3390/plants13202843
Wang Z., Li L., Ouyang L. Efficient genetic transformation method for *Eucalyptus* genome editing. *PLoS One.* 2021;16(5):e0252011. DOI: 10.1371/journal.pone.0252011
Young J.M., Kuykendall L.D., Martínez-Romero E., Kerr A., Sawada H. A revision of *Rhizobium* Frank 1889, with an emended description of the genus, and the inclusion of all species of *Agrobacterium* Conn 1942 and *Allorhizobium undicola* de Lajudie *et al*. 1998 as new combinations: *Rhizobium radiobacter*, *R. rhizogenes*, *R. rubi*, *R. undicola*, and *R. vitis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2001;51(Pt. 1):89-103. DOI: 10.1099/00207713-51-1-89
Zhan C.Y. Genome editing and functional verification of eucalyptus disease resistance genes. *Tree Genetics and Molecular Breeding.* 2024;14(2):81-94. DOI: 10.5376/tgmb.2024.14.0009
Zhang Y., Wang X. Geographical spatial distribution and productivity dynamic change of eucalyptus plantations in China. *Scientific Reports.* 2021;11:19764. DOI: 10.1038/s41598-021-97089-7
Zhou T., Lin Y., Lin Y., Luo J., Ding J. Regeneration and Agrobacterium-mediated genetic transformation of twelve *Eucalyptus* species. *Forest Research (Fayetteville).* 2022;2:15. DOI: 10.48130/FR-2022-0015

## *Информация об авторах*

**Ольга Вячеславовна Битюкова,** магистрант, Санкт-Петербургский государственный университет, 199034 Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9, 79292693255o@gmail.com, https://orcid.org/0009-0008-9124-4356
**Матвеева Татьяна Валерьевна,** доктор биологических наук, профессор, кафедра генетики и биотехнологии, биологический факультет, Санкт-Петербургский государственный университет, 199034 Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9; Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, 196608 Россия, Санкт-Петербург, Пушкин, шоссе Подбельского, 3, t.v.matveeva@spbu.ru, radishlet@gmail.com, http://orcid.org/0000-0001-8569-6665
**Людмила Алексеевна Лутова,** доктор биологических наук, профессор, кафедра генетики и биотехнологии, биологический факультет, Санкт-Петербургский государственный университет, 199034 Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9, Россия, l.lutova@spbu.ru, https://orcid.org/0000-0001-6125-0757

## *Information about the authors*

**Olga V. Bityukova,** Master's student, St. Petersburg State University, 7/9, Universitetskaya Embankment, St. Petersburg, 199034 Russia, 79292693255o@gmail.com, https://orcid.org/0009-0008-9124-4356
**Tatiana V. Matveeva,** Dr. Sci. (Biology), Professor, Department of Genetics and Biotechnology, Faculty of Biology, St. Petersburg State University, 7/9, Universitetskaya Embankment, St. Petersburg, 199034 Russia; All-Russian Research Institute of Plant Protection, 3, Podbelskogo Highway, Pushkin, St. Petersburg, 196608 Russia, t.v.matveeva@spbu.ru, radishlet@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-8569-6665
**Ludmila A. Lutova,** Dr. Sci. (Biology), Professor, Department of Genetics and Biotechnology, Faculty of Biology, St. Petersburg State University, 7/9, Universitetskaya Embankment, St. Petersburg, 199034 Russia, l.lutova@spbu.ru, https://orcid.org/0000-0001-6125-0757

***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 conflict of interests.

Статья поступила в редакцию 27.05.2026; одобрена после рецензирования 25.06.2026; принята к публикации 14.09.2026.
The article was submitted on 27.05.2026; approved after reviewing on 25.06.2026; accepted for publication on 14.09.2026.

**Научная статья**
**УДК 635.21:631.527.52:577.21**
**DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o5**

(cc) BY

# Выбор исходного материала и закладка диплоидных инбредных линий в рамках программы гетерозисной селекции картофеля

**А. П. Ермишин, Е. В. Воронкова, О. Н. Гукасян**

Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

***Автор, ответственный за переписку:*** Александр Петрович Ермишин, ermishin@igc.by

**Актуальность.** Современный этап развития генетики и селекции картофеля характеризуется интенсификацией работ ведущих селекционных фирм по внедрению технологии получения диплоидных гибридов $F_1$, размножаемых ботаническими семенами. Однако широкое применение этой технологии осложняется недостатком или отсутствием в международных генетических банках образцов, необходимых для ее инициации. В Институте генетики и цитологии НАН Беларуси создана коллекция селекционного материала для проведения эффективной селекции картофеля на диплоидном уровне. **Цель работы** – оценить возможность и определить особенности использования этой коллекции для реализации программы маркер-опосредованной селекции диплоидных гибридов картофеля, которая стартовала в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси в 2021 году. В задачи исследования входило: оценить эффективность схем получения исходного материала для закладки диплоидных инбредных линий картофеля; отобрать по клубневой продуктивности, признакам культурного картофеля, и устойчивости к болезням и вредителям фертильные самосовместимые диплоидные клоны $S_1(F_2)$ для последующего создания инбредных линий; получить семена самоопыленных клонов $S_2(F_3)$. **Результаты**. Показано, что наиболее эффективными для закладки инбредных линий являются схемы с участием селекционно продвинутых диплоидных клонов на основе межвидовых гибридов и доноров фертильности и самосовместимости *Solanum tuberosum* L. Всего получено 3212 семян (36,5 семян/ягоду) от самоопыления 38 перспективных гибридов пяти схем. Отобрано для получения инбредных линий самоопыленное потомство 29 образцов диплоидного картофеля. Семена от самоопыления диплоидных клонов обладали пониженной всхожестью и слабым развитием сеянцев: в горшки с торфогрунтом высажено менее 20% возможного их количества. При уборке отобрано по признакам культурного картофеля 167 сеянцев самоопыленных клонов $S_1$. По результатам полевых испытаний 67 клонов $S_1$ из 156 (42,9%) завязали ягоды от самоопыления. Из них отобрали по признакам культурного картофеля и полевой устойчивости к фитофторозу 36 клонов (23,1%). Они ведут происхождение от 17 диплоидных клонов, несущих ДНК-маркеры ряда генов устойчивости к болезням и вредителям. Семена от их самоопыления: всего 4699 шт., из которых 4382 от клонов $S_1$ на основе межвидовых гибридов, будут использованы для получения и отбора самоопыленных клонов $S_2$. **Заключение**. Использованная в работе коллекция диплоидного картофеля пригодна для закладки инбредных линий. Наиболее эффективные схемы создания исходного материала – на основе межвидовых гибридов и оригинальных линий *S. tuberosum* доноров фертильности и самосовместимости. Получены семена от самоопыления фертильных самосовместимых клонов $S_1$ на основе исходных диплоидных клонов, несущих ДНК-маркеры ряда ценных для селекции генов устойчивости к болезням и вредителям.

***Ключевые слова*:** картофель, отбор на диплоидном уровне, фертильность, самосовместимость, инбридинг, гетерозис, ДНК-маркеры

***Благодарности:*** работа выполнена в рамках проектов 2.1.6 и 2.10.5 Государственной программы научных исследований «Биотехнологии 2» Республики Беларусь на 2021-2025 годы

***Для цитирования:*** Ермишин А.П., Воронкова Е.В., Гукасян О.Н. Выбор исходного материала и закладка диплоидных инбредных линий в рамках программы гетерозисной селекции картофеля. *Биотехнология и селекция растений.* 2026;9(3):31-45. DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o5

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.

© Ермишин А.П., Воронкова Е.В., Гукасян О.Н., 2026

**Original article**
**DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o5**

# Selection of source material and establishment of diploid inbred lines within the framework of the potato heterotic breeding program

**Alexander P. Yermishin, Elena V. Voronkova, Olga N. Gukasian**

Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

***Corresponding author:*** Alexander P. Yermishin, ermishin@igc.by

**Background.** The present stage of development of potato genetics and breeding is characterized by an intensified activity of the leading breeding companies in using the technology of obtaining $F_1$ diploid hybrids propagated from true seed. However, wide application of this technology is complicated, as germplasm essential for its initiation is either deficient or lacks in international genebanks. Realization of diploid breeding programs is hampered by self-incompatibility and inbreeding depression intrinsic to diploid potatoes, manifested in male sterility or low male fertility and dramatic reduction of productivity in self-pollination progeny. The Institute of Genetics and Cytology of the Academy of Sciences of Belarus was successful in finding solutions to the majority of these problems through long-term research. One of the best collections of diploid breeding material has been created for effective potato breeding via the diploid level, including the production of inbred lines. **Objectives.** The aim of the study was to evaluate the possibility and specify the peculiarities of using this collection for realizing the program of marker-assisted breeding of diploid potato hybrids, which started in 2021. The objectives of the research were: to evaluate the efficiency of schemes of creating initial materials for establishing diploid inbred lines; to select fertile self-compatible $S_1(F_2)$ diploid clones assessed by tuber productivity, cultivated potato characters, disease and pest resistance; to produce seeds of $S_2(F_3)$ selfed clones. **Results**. It was demonstrated that the schemes most effective for establishing inbred lines were those that involved advanced diploid breeding clones derived from interspecific hybrids and *Solanum tuberosum* L. fertility and self-compatibility (DFS) donor lines. In total, 3212 seeds (36.5 seeds/berry) were produced from self-pollination of 38 advanced diploid hybrids from five crossing schemes. We failed to produce seeds from self-pollination of backcross progeny of hybrids between dihaploids and DFS to initial dihaploids because of their low male fertility. Backcrossing of such hybrids to DFS demonstrated insufficient level of cultivated potato characters. The self-progeny of 29 diploid clones was selected for establishing $S_1$ selfed clones. The seeds resulting from self-pollination demonstrated low germination and poor seedlings development at the early stage, therefore less than 20% of them were planted in pots for producing 1st year seedlings. Two thirds of seedlings were discarded during harvesting as having failed the assessment of their cultivated potato characters. In total, 167 seedlings of $S_1$ selfed clones from all 29 initial diploid clones were selected. In field trials (Minsk, 2025), 67 out of 156 $S_1$ selfed clones (42.9%) produced berries. From these 67, 36 $S_1$ clones (23.1%) were selected thanks to their cultivated potato characters and field late blight resistance. They originated from 17 initial diploid clones carrying DNA markers of a set of disease and pest resistance genes. The seeds resulting from their self-pollination totaling 4699 pcs, 4382 of which were from $S_1$ clones derived from interspecific hybrids, will be used for the production and selection of $S_2$ self-pollinated clones. **Conclusions**. The collection of diploid potato used in the research has shown good suitability for the establishment of inbred lines. The most effective schemes for producing the initial material were based on the use of interspecific hybrids and original *S. tuberosum* fertility and self-compatibility donor lines. Seeds were obtained from self-pollination of fertile self-compatible $S_1$ clones derived from the original diploid clones carrying DNA markers of a number of disease and pest resistance genes of importance for breeding.

***Keywords***: potato, selection via the diploid level, fertility, self-compatibility, inbreeding, heterosis, DNA-markers

***Acknowledgements:*** the work was performed in the frames of projects 2.1.6 and 2.10.5 of the State Program of Scientific Research "Biotechnology 2" of the Republic of Belarus for 2021-2025.

***For citation:*** Yermishin A.P., Voronkova E.V., Gukasian O.N. Selection of source material and establishment of diploid inbred lines within the framework of the potato heterotic breeding program. *Plant Biotechnology and Breeding.* 2026;9(3):31-45. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-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.

© Yermishin A.P., Voronkova E.V., Gukasian O.N., 2026

## Введение

Современный этап развития генетики и селекции картофеля характеризуется интенсификацией работ ведущих селекционных фирм по реализации новой парадигмы выращивания и селекции картофеля, связанной с получением гетерозисных гибридов $F_1$, размножаемых ботаническими семенами (Lindhout et al., 2011; 2018; Jansky et al., 2016; Vexler et al., 2024). Пионер в этой области нидерландская фирма Solynta в 2023 году представила семена первых восьми коммерческих гибридов картофеля и начала их реализацию на рынках регионов Западной, Центральной и Восточной Европы, Африки и Америки (www.solynta.com), а также Индии (Zienkiewicz, 2024).

Внедрение новой технологии призвано решить существующие проблемы селекции и семеноводства картофеля, так как позволяет значительно поднять скорость и вариативность селекционного процесса, существенно повысить потенциал урожайности гибридов. Появляется возможность быстро «добавлять» определенные гены родительским линиям и гибридам в соответствии с изменяющимися запросами потребителей. Эффективность семенного размножения намного выше вегетативного размножения. Большинство патогенов не передается потомству через ботанические семена. Гектарная доза ботанических семян картофеля весит всего 25 г, что существенно упрощает и удешевляет их транспортировку и хранение (Lindhout et al., 2011; 2018; Jansky et al., 2016).

Однако широкое применение технологии селекции гетерозисных гибридов картофеля осложняется недостатком или отсутствием в международных генетических банках образцов, необходимых для ее инициации. Реализация программ диплоидной селекции на гетерозис затруднена из-за самонесовместимости и присущей диплоидному картофелю инбредной депрессии, которая проявляется в виде мужской стерильности или пониженной фертильности, резком снижении показателей продуктивности у потомства от самоопыления (Lindhout et al., 2011; 2018).

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси начал работы в этой области в 1993 году. В результате многолетних исследований удалось в значительной мере решить названные проблемы и создать одну из лучших коллекций диплоидного селекционного материала, необходимого для проведения эффективной селекции картофеля на диплоидном уровне, в том числе создания инбредных линий для получения гетерозисных гибридов (Yermishin et al., 2020). Она включает **коллекцию первичных дигаплоидов сортов картофеля**, которые являются источниками признаков культурного картофеля: высокой продуктивности, компактности гнезда клубней, правильной формы клубней с неглубокими глазками, а также источниками многочисленных генов устойчивости к болезням и вредителям.

Одним из важнейших элементов коллекции являются **диплоидные клоны *S. tuberosum* – доноры фертильности и самосовместимости**. Они получены в результате реализации программы селекции, которая включала комбинацию метода инбридинга и отбора по показателям функциональной фертильности пыльцы и самосовместимости (Yermishin, 2000; Yermishin, Voronkova, 2017; Yermishin et al., 2020).

Ядро коллекции составляют **диплоидные клоны, созданные в результате маркер-опосредованной селекции на диплоидном уровне.** Диплоидные клоны *S. tuberosum* на основе первичных дигаплоидов сортов картофеля и доноров фертильности и самосовместимости отбирали по продуктивности, признакам культурного картофеля и наличию ДНК-маркеров генов устойчивости к болезням и вредителям. Многие клоны обладают мужской фертильностью и способны завязывать семена при самоопылении. Нами были предложены и реализованы новые подходы к преодолению межвидовых репродуктивных барьеров (Yermishin et al., 2021). С помощью разработанных методов получен ряд уникальных гибридов между культурным картофелем и дикими видами, которые редко используются в селекции, так как практически не скрещиваются с сортами картофеля. Наибольший интерес представляют межвидовые гибриды с мексиканскими диплоидными и аллотетраплоидными видами, несущие гены высокой устойчивости к фитофторозу широкого спектра действия. Многие из полученных гибридов и их потомство обладают мужской фертильностью и самосовместимостью, так как при их создании использовали вышеупомянутые доноры фертильности и самосовместимости.

**Цель настоящей работы** – оценить возможность и определить особенности использования коллекции диплоидного селекционного материала Института генетики и цитологии НАН Беларуси для реализации программы маркер-опосредованной селекции диплоидных гибридов картофеля, которая стартовала в институте в 2021 году.

**В задачи исследования входило**:

- оценить эффективность схем получения исходного материала для закладки диплоидных инбредных линий картофеля;
- отобрать по клубневой продуктивности, признакам культурного картофеля, устойчивости к болезням и вредителям фертильные самосовместимые диплоидные клоны $S_1(F_2)$ для последующего создания инбредных линий;
- получить семена самоопыленных клонов $S_2(F_3)$.

## Материалы и методы

В качестве материала использовали диплоидные селекционные клоны на основе *Solanum tuberosum* L. и межвидовых гибридов картофеля, гибриды между названными группами селекционного материала, полученные в лаборатории генетики картофеля Института генетики и цитологии НАН Беларуси, а также семена от самоопыления диплоидных клонов, полученные из них

сеянцы первого года и отобранные клоны первого клубневого поколения. При описании происхождения диплоидных клонов использованы следующие сокращения: Пдг – первичный дигаплоид какого-либо сорта картофеля или селекционного клона, в родословных гибридов указаны названия сортов, клонов, дигаплоиды которых использованы при их получении; ДФ – линия-донор фертильности и самосовместимости; 2n ДФ – линия-донор формирования фертильной 2n пыльцы; mix – смесь пыльцы от разных образцов; IGC XX/YY.n – обозначение гибридов, полученных в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси, где X − год получения гибрида, Y − номер гибридной комбинации, n – номер гибрида в комбинации; $S_n$ клон – самоопыленный клон, где подстрочный n – поколение самоопыления. Для обозначения диких видов картофеля в родословной гибридов использованы трехбуквенные обозначения названий видов картофеля, принятые в научной литературе: blb − *S. bulbocastanum* Dunal., fen – *S. fendleri* A. Grav., phu − *S. phureja* Juz.&Bukasov; pnt – *S. pinnatisectum* Dunal., sto – *S. stoloniferum* Schltdl.&Bouchet, vrn – *S. vernei* Bitter&Wittm.; Sv – *SvSv*-линия ($F_2$ 2x *S. tuberosum* L. × *S. verrucosum* Schltdl. (Yermishin et al., 2017).

Принимая во внимание биологические особенности диплоидного картофеля, а именно: пониженная мужская фертильность и самонесовместимость, сильная инбредная депрессия самоопыленного потомства, и характеристики инбредных линий, которые предполагается получить: наличие фертильности, признаков культурного картофеля, генов устойчивости к болезням и вредителям – были определены возможные схемы селекции исходного материала для закладки инбредных линий (рис. 1).

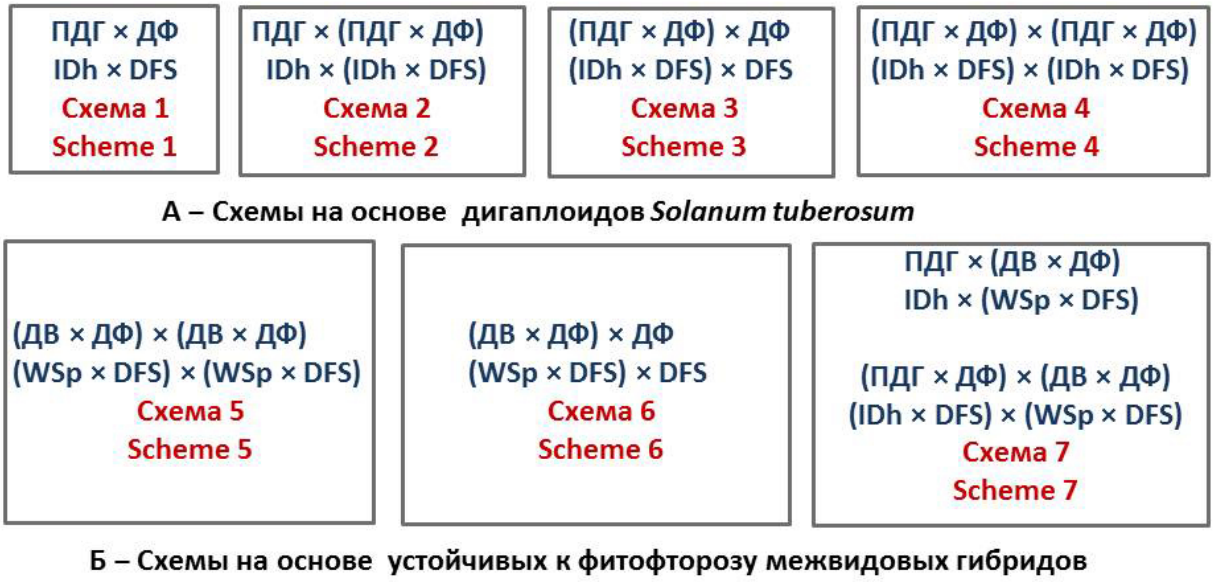



**Рис. 1. Схемы селекции исходного материала для закладки диплоидных инбредных линий**
ПДГ – первичный дигаплоид картофеля; ДФ – донор фертильности и самосовместимости; ДВ – дикий вид

**Fig. 1. Schemes of breeding the initial material for establishing diploid inbred lines**
IDh – initial dihaploid; DFS – donor of fertility and self-compatibility; WSp – wild species

**Схемы на основе гибридов *Solanum tuberosum*:**

1. Самоопыление фертильных самосовместимых гибридов $F_1$ первичный дигаплоид × донор фертильности и самосовместимости;
2. Самоопыление фертильных самосовместимых гибридов беккросса исходный первичный дигаплоид × (фертильные гибриды $F_1$ первичный дигаплоид × донор фертильности и самосовместимости);
3. Самоопыление фертильных самосовместимых гибридов беккросса (гибриды $F_1$ первичный дигаплоид × донор фертильности и самосовместимости) × донор фертильности и самосовместимости;
4. Самоопыление фертильных самосовместимых гибридов от скрещиваний между фертильными диплоидными селекционными клонами *S. tuberosum*.

**Схемы на основе фитофтороустойчивых межвидовых гибридов:**

1. Самоопыление фертильных самосовместимых гибридов между диплоидными селекционными клонами на основе фитофтороустойчивых межвидовых гибридов.
2. Самоопыление фертильных самосовместимых гибридов $F_1$ диплоидные селекционные клоны на основе межвидовых гибридов × доноры фертильности

и самосовместимости;

3. Самоопыление и сестринские скрещивания фертильных самосовместимых гибридов между первичными дигаплоидами, диплоидными клонами *S. tuberosum* и межвидовыми гибридами.

Большинство изученных в рамках настоящего исследования гибридов было получено и оценено ранее (Yermishin, Voronkova, 2017; Yermishin et al., 2017; 2020; 2021). Также в рамках исследования предпринята попытка реализации некоторых из приведенных схем с целью получения гибридов, которые не были представлены в коллекции. О результативности схем судили по количеству семян, полученных в результате самоопыления соответствующих диплоидных клонов, количеству сеянцев $S_1$, отобранных для проведения полевых испытаний, количеству семян от самоопыления клонов $S_1$, отобранных по признакам культурного картофеля и полевой устойчивости к фитофторозу.

**Выращивание экспериментальных растений картофеля.** Растения картофеля соответствующих клубневых репродукций выращивали на экспериментальном поле Биологической опытной станции ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси» в мае-сентябре 2023-2025 годов. Схема посадки – 70 см между рядами и 25-30 см – между растениями в ряду. Осуществляли трехкратное окучивание растений до смыкания ботвы и двукратную обработку препаратом для защиты от колорадского жука.

**Оценка клубневой продуктивности и признаков культурного картофеля.** Оценку признаков продуктивности сеянцев первого года и первой клубневой репродукции инбредных линий $S_1$ проводили визуально в баллах от 1 до 5. Учитывали также признаки: длина столонов, форма клубней, глубина глазков. К культурному типу относили растения с короткими столонами, имеющие клубни правильной формы без глубоких глазков. К дикому типу, соответственно, растения с большим числом длинных столонов и/или большим числом мелких клубней, или клубней неправильной формы, с глубокими глазками.

**Оценка полевой устойчивости к фитофторозу картофеля.** Оценку устойчивости к фитофторозу инбредных линий $S_1$ осуществляли визуально в баллах от 1 до 9 в полевых условиях 4-10 августа 2025 года при сильном поражении патогеном неустойчивых сортов картофеля.

**Оценка плоидности родительских клонов инбредных линий $S_1$.** Клубни проращивали в фитотроне, световой период 16 ч, освещенность 5 тыс. люкс, в горшочках с торфогрунтом «Двина». С проростков высотой 20-30 см собирали листья. Снятый с нижней стороны листа эпидермис фиксировали в ледяной уксусной кислоте, окрашивали 5% спиртовым раствором йода. Препараты изучали под световым микроскопом при увеличении 40×. Диплоидными считали растения с 12-14 хлоропластами на пару замыкающих устьичных клеток, тетраплоидными – с 18 и более хлоропластами (Kostrica, Domkarova, 1993; De Maine, 2003).

**Оценка родительских клонов инбредных линий $S_1$ на предмет наличия ДНК-маркеров генов устойчивости к болезням и вредителям.** Выделение и очистку ДНК осуществляли из этиолированных проростков с использованием набора DNA purification Kit (Thermo Scientific, EC) в соответствии с рекомендациями производителя. Измерение концентрации и степени очистки ДНК выполняли с использованием спектрофотометра Ultrospec 3300 (Amersham Biosciences, USA). Синтез праймеров осуществлен в ОДО «Праймтех» и ООО «АртБиоТех» (Минск, Беларусь). Использовали *Taq*-полимеразу и сопутствующие реактивы производства этих же компаний.

Определяли наличие ДНК маркеров $57R_{450}$ и $Gro1\text{-}4_{602}$ генов *H1* и *Gro1-4* устойчивости к золотистой цистообразующей картофельной нематоде, маркера $NL25_{1400}$ гена *Sen1* устойчивости к возбудителю рака картофеля, маркера $RYSC3_{321}$ гена $Ry_{adg}$ устойчивости к PVY, маркеров $517/1519_{650}$ и $R3b_{378}$ генов *Rpi-blb1*и *R3b* устойчивости к фитофторозу (табл. 1).

ПЦР осуществляли в 20 мкл унифицированной смеси реактивов, содержавшей препарат геномной ДНК в количестве 100 нг, 2,5 мМ $MgCl_2$; 0,25 мМ dNTP; соответствующие праймеры, прямой и обратный, в концентрации 0,4 мкМ (400 нМ); *Taq*-ДНК-полимеразу в количестве 0,7-1 ед. с буфером 10× для ПЦР без $MgCl_2$ – 0,1 мкл/1мкл ПЦР смеси (10% от объема смеси) и с доведением объема смеси до конечного деионизированной водой.

Унифицированный режим для проведения ПЦР: начальная денатурация в течение 7 мин. при 95°С; далее 38 циклов по 20 сек. при 95°С, 20 сек. при температуре отжига праймеров и 2 мин. при 72°С; финальная элонгация в течение 7 мин при температуре 72°С.

## Результаты

В таблице 2 представлены результаты получения семян от самоопыления диплоидных клонов на основе *Solanum tuberosum* L. (см. рис. 1, схемы 1-4). Как видно из таблицы (см. табл. 2), фертильные гибриды между первичными дигаплоидами и донорами фертильности относительно легко и в большом количестве завязывали семена от самоопыления (см. рис. 1, схема 1), а также гибриды между подобными гибридами (см. рис. 1, схема 4), в том числе те, что были получены в результате сестринских скрещиваний (гибрид IGC 95/27.3).

**Таблица 1. ДНК-маркеры генов устойчивости к болезням и вредителям, использованные в работе**

**Table 1. DNA markers of disease and pest resistance genes used in the study**

| Маркер/ Marker | Ген/ Gene | Последовательность праймера (5'→3')/ Primer sequence (5'→3') | Температура отжига праймера (°C)/ Annealing temperature (°C) | Размер продукта ПЦР (пн)/ PCR product size (bp) | Источник/ Reference |
|---|---|---|---|---|---|
| 57R | *H1* | F: TGCCTGCCTCTCCGATTTCT<br>R: GGTTCAGCAAAAGCAAGGACGTG | 60 | 450 | Schultz et al., 2012 |
| Gro1-4 | *Gro1-4* | F: TCTTTGGAGATACTGATTCTCA<br>R: CGACCTAAAATGAAAAGCATCT | 58 | 602 | Gebhardt et al., 2006 |
| NL25 | *Sen1* | F: TATTGTTAATCGTTACTCCCTC<br>R: AGAGTCGTTTTACCGACTCC | 58 | 1400 | Gebhardt et al., 2006 |
| RYSC3 | $Ry_{adg}$ | F: ATACACTCATCTAAATTTGATGG<br>R: GGATATACGGCATCATTTTTCCGA | 60 | 321 | Kasai et al., 2000 |
| 517/1519 | *Rpiblb-1* | F: CATTCCAACTAGCCATCTTGG<br>R: TATTCAGATCGAAAGTACAACG | 58 | 651 | Wang et al., 2008 |
| R3b | *R3b* | F: TCGATGAATGCTATGTTTCTCGAGA<br>R: ACCAGTTTCTTGCAATTCCAGATTG | 61 | 378 | Rietman et al., 2012 |

**Таблица 2. Ягоды и семена от самоопыления исходного материала для закладки диплоидных инбредных линий на основе *Solanum tuberosum* L.**

(Минск, 2023)

**Table 2. Berries and seeds from self-pollination of the initial material for establishing *S. tuberosum*-derived diploid inbred lines**

(Minsk, 2023)

| Образец IGC/ IGC accession | Происхождение/ Pedigree | Схема/ Scheme | Ягод, шт./ Berries, pcs | Семян, шт./ Seeds, pcs | Семян на ягоду, шт./ Seeds per berry, pcs |
|---|---|---|---|---|---|
| 18/84.2 | 13/64.1 Пдг31Y-04-13 × mix 12/40.n ДФ | 1 | 2 | 171 | 85,5 |
| 21/6.1 | 17/22.2 Пдг 'Olga' × IGC 12/40.3 ДФ | 1 | 2 | 38 | 19 |
| 21/14.4 | 18/22.1 Пдг 'Максимум' × 12/40.8 ДФ | 1 | 2 | 76 | 38 |
| 21/14.1 | 18/22.1 Пдг 'Максимум' × 12/40.8 ДФ | 1 | 3 | 25 | 8,3 |
| 21/14.2 | 18/22.1 Пдг 'Максимум' × 12/40.8 ДФ | 1 | 2 | 43 | 21,5 |
| 95/27.3 | 93/9.8 (Пдг'Покра' × 92/1.2'Jubel' ДФ) × 93/9.3 (Пдг'Покра' × 92/1.2 'Jubel' ДФ) | 4 | 1 | 69 | 69 |
| 13/31.15 | 09/8.24 Пдг 'Лилея' × 12/54.1 (Пдг'Norteña' ×Пдг'Atzimba') | 4 | 4 | 110 | 27,5 |

Не удалось получить семена от самоопыления беккросса гибридов *S. tuberosum* на исходный первичный дигаплоид (см. рис. 1, схема 2) из-за их низкой мужской фертильности. В таблице 2 также не представлены данные об эффективности схемы 3 (беккросс гибридов *S. tuberosum* на доноры фертильности и самосовместимости, см. рис. 1), так как полученные гибриды, несмотря на фертильность и самосовместимость, показали неудовлетворительный уровень признаков культурного картофеля, характерный, в некоторой степени, для родительских ДФ-линий.

Как видно из результатов, приведенных в таблице 3, 24 клона на основе межвидовых гибридов завязали 2038 семян от самоопыления, в то время как семь клонов на основе *S. tuberosum* (см. рис. 1, схемы 1-4; см. табл. 2) завязали 532 семени.

Таким образом, эффективными оказались пять из семи испытанных схем скрещиваний (см. рис. 1) для получения диплоидных гибридов, пригодных для закладки инбредных линий. Всего получено 3212 семян (36,5 семян/ на ягоду) от самоопыления 38 перспективных диплоидных клонов.

В течение зимнего периода 2023-2024 годов проведена проверка плоидности родительских форм, завязавших семена в результате свободного самоопыления. Не все отобранные клоны прошли тест на соответствие пло-

**Таблица 3. Ягоды и семена от самоопыления исходного материала для закладки диплоидных инбредных линий на основе межвидовых гибридов**

(Минск, 2023)

**Table 3. Berries and seeds from self-pollination of the initial material for establishing diploid inbred lines derived from interspecific hybrids**

(Minsk, 2023)

| Образец IGC/ Sample IGC | Происхождение/ Pedigree | Схема/ Scheme | Ягод, шт./ Berries, pcs | Семян, шт./ Seeds, pcs | Семян на ягоду, шт./ Seeds per berry, pcs |
|---|---|---|---|---|---|
| 13/88.1 | 03/170.2 sto ДФ × 07/86.84 blb ДФ | 5 | 2 | 23 | 11,5 |
| 13/90.1 | 08/30.12 'Norteña' sto ДФ × 07/86.72 blb ДФ | 5 | 2 | 21 | 10,5 |
| 13/90.2 | 08/30.12 'Norteña' sto ДФ × 07/86.72 blb ДФ | 5 | 3 | 13 | 4,3 |
| 19/89.4 | 16/22.9 'Agria' sto ДФ × 14/49 4KP svpnt | 5 | 2 | 151 | 75,5 |
| 21/28.1 | $S_1$19/65.3 'Альпинист' sto blb ДФ | 5 | 2 | 48 | 24 |
| 17/67.6 | 07/40.1 pnt fen ДФ × mix 12/40.n ДФ | 6 | 2 | 64 | 32 |
| 14/29.2 | 08/3.17 Пдг 'Heidrun' × 02/185.3sto ДФ | 7 | 1 | 152 | 152 |
| 94/135.12 | 92/1.2 $S_2$ Пдг 'Jubel' × 203/5.7 'Полесский розовый' phu vrn | 7 | 1 | 86 | 86 |
| 14/23.1 | 08/6.1 Пдг 'Блакит' × 07/86.72 blb ДФ | 7 | 3 | 115 | 38,3 |
| 15/47.3 | 09/8.24 Пдг 'Лилея' × 12/45.4 'Saphir' fen ДФ | 7 | 3 | 56 | 18,7 |
| 14/10.3 | 98/100.36 Пдг 'Альпинист' × 05/1.2 fen ДФ | 7 | 2 | 13 | 6,5 |
| 14/5.6 | 98/102.12 Пдг 'Альпинист' × 07/86.72 blb ДФ | 7 | 2 | 93 | 46,5 |
| 14/42.3 | 09/7.8 Пдг 4KP × 02/181.1 sto ДФ | 7 | 2 | 35 | 17,5 |
| 14/45.5 | 09/7.8 Пдг 4KP × 08/29.40 'Norteña' sto ДФ | 7 | 2 | 152 | 76 |
| 19/262.2 | $S_1$18/108.1'Saphir' 'Norteña' 'Atzimba' fen ДФ | 7 | 2 | 6 | 3 |
| 17/72.4 | 13/31.6 'Лилея' 'Norteña' 'Atzimba' × 13/88.1,2 sto blb ДФ | 7 | 2 | 46 | 23 |
| 21/57.2 | $S_1$18/104 'Saphir' sto blb ДФ | 7 | 2 | 36 | 18 |
| 18/76.1 | 07/9.1 Пдг 'Дубрава' × 13/88.1sto blb ДФ | 7 | 4 | 183 | 45,8 |
| 18/83.3 | 13/60.2 Пдг 52-03-16 × 13/77.3blb sto ДФ | 7 | 4 | 100 | 25 |
| 18/83.6 | 13/60.2 Пдг 52-03-16 × 13/77.3 blb sto ДФ | 7 | 3 | 53 | 17,7 |
| 18/83.4 | 13/60.2 Пдг52-03-16 × 13/77.3 blb sto ДФ | 7 | 4 | 154 | 38,5 |
| 18/87.4 | 16/10.9 Пдг'Манифест' × 12/45.12 'Saphir' fen ДФ | 7 | 2 | 82 | 41 |

идности 2n=2x. В частности, тетраплоидными оказались клоны IGC 19/73.1 (07/86.83blb × 16n.8 2nДФ) и IGC 19/65.2 (02/183.22sto × IGC14/5.6 'Альпинист' blb ДФ). Их потомство было исключено из дальнейших исследований (см. табл. 2; 3: представлены данные только по отобранным клонам). Учитывая тот факт, что явление формирования нередуцированных 2n гамет является распространенным в популяциях диплоидного картофеля, считаем, что контроль уровня плоидности материала является важным этапом диплоидной селекции.

Весной 2024 года сеянцы из семян от самоопыления 29 отобранных диплоидных клонов были высажены в горшочки с торфогрунтом с целью получения и отбора первого клубневого поколения $S_1$ (табл. 4; рис. 2). Семена от самоопыления диплоидных клонов в силу инбредной депрессии обладали пониженной всхожестью и слабым развитием сеянцев на начальных этапах развития: в горшки с торфогрунтом высажено менее 20% возможного их количества. При уборке клубней в результате отбора по признакам культурного картофеля около двух третей сеянцев было выбраковано по причине слабого клубнеобразования, плохой формы клубней, формирования длинных столонов или клубней с глубокими глазками. В общей сложности отобрано 167 сеянцев самоопыленных клонов $S_1$ (36,8%) из всех исходных 29 диплоидных клонов.

По результатам полевых испытаний 156 самоопыленных клонов $S_1$ (29 на основе *S. tuberosum* и 127 на основе межвидовых гибридов) завязали ягоды от самоопыления 67 клонов (42,9%). После их оценки по признакам культурного картофеля и устойчивости к фитофторозу отобраны 36 клонов $S_1$ (23,1%), из которых шесть на основе *S. tuberosum* и 30 на основе межвидовых гибридов. Отобранные клоны $S_1$ ведут происхождение от 17 диплоидных клонов (четыре на основе *S. tuberosum* и 13 на основе межвидовых гибридов). Семена от их самоопыления (всего 4699, из них 317 от клонов $S_1$ на основе *S. tuberosum* и 4382 от клонов $S_1$ на основе межвидовых гибридов) предполагается использовать для получения самоопыленных клонов $S_2$ (см. табл. 4, первая клубневая репродукция).

**Таблица 4. Результаты отбора сеянцев первого года самоопыленного потомства диплоидных клонов картофеля** (сеянцы $S_1$, Минск 2024) **и завязавших семена клонов $S_1$** (первая клубневая репродукция, Минск 2025)

**Table 4. The results of selecting the first year seedlings from the self-pollinated progeny of potato diploid clones** ($S_1$ seedlings, Minsk, 2024) **and $S_1$ clones that set seeds** (the first tuber reproduction, Minsk 2025)

| Самоопыленные клоны $S_1$/ $S_1$ selfed clones | Происхождение/ Pedigree | Сеянцы первого года/ 1st year seedlings | | | Первая клубневая репродукция/ 1st tuber generation | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Семян, шт./ Seeds, pcs | Посажено сеянцев, шт./ Seedlings planted, pcs | Отобрано сеянцев, шт./ Seedlings selected | Посажено сеянцев/ Сеянцев с ягодами/ Seedlings planted/ seedlings with berries | Устойчивость к фитофторозу сеянцев с ягодами, баллы/ Late blight resistance of seedlings with berries, points | Отобрано сеянцев, шт/ Seedlings selected, pcs | Ягод, шт./ Berries, pcs | Семян (семян на ягоду), шт./ Seeds (seeds per berry), pcs |
| **Клоны на основе *S. tuberosum* L./ *S. tuberosum*-derived clones** | | | | | | | | | |
| IGC 23/5 | $S_1$ 13/31.15(09/8.24 Пдг 'Лилея' × 12/54.1 'Norteña' 'Atzimba') | 110 | 29 | 16 | 15/5 | 7,5 | 1 | 2 | 0 |
| IGC 23/10 | $S_1$ 18/84.2(13/64.1 Пдг 31Y-04-13 × 12/40.n ДФ) | 171 | 15 | 5 | 5/4 | 7,5 | 1 | 3 | 19(6,3) |
| IGC 23/21 | $S_1$ 21/6.1 (17/22.2 Пдг 'Olga' × 12/40.3ДФ) | 38 | 14 | 4 | 4/2 | 6 | 2 | 3 | 84(28,0) |
| IGC 23/22 | $S_1$ 21/13.14 (18/22.1Пдг 'Максимум' × 12/40.5 ДФ) | 76 | 20 | 2 | 2/2 | 8,5 | 1 | 1 | 87 (87,0) |
| IGC 23/23 | $S_1$ 21/14.1 (18/22.1 Пдг 'Максимум' × 12/40.8 ДФ) | 25 | 6 | 1 | 1/1 | 6 | 1 | 11 | 127 (11,5) |
| IGC 23/24 | $S_1$ 21/14.2 (18/22.1 Пдг 'Максимум' × 12/40.8 ДФ) | 43 | 19 | 2 | 2/0 | - | 0 | - | - |
| Итого: In total: | | 463 | 103 | 30 | 29/14 | | 6 | 20 | 317(15,9) |
| **Клоны на основе межвидовых гибридов/ Clones derived from interspecific hybrids** | | | | | | | | | |
| IGC 23/3 | $S_1$ 14/29.2 ( 08/3.17 Пдг 'Heidrun' × 02/185.3 sto ДФ) | 152 | 3 | 2 | 1/0 | - | 0 | - | - |
| IGC 23/4 | $S_1$ 94/135.12 (92/1.2 'Jubel' × 203/5.7 phu vrn) | 86 | 14 | 7 | 6/0 | - | 0 | - | - |
| IGC 23/6 | $S_1$ 14/23.1 (08/6.1 Пдг 'Блакит' × 07/86.72 blb ДФ) | 115 | 22 | 9 | 9/2 | 7 | 2 | 4 | 98(24,5) |
| IGC 23/7 | $S_1$ 15/47.3(09/8.24 Пдг 'Лилея' × 12/45.4 Saphir fen ДФ) | 56 | 20 | 8 | 8/3 | 8-8,5 | 2 | 12 | 370(30,8) |
| IGC 23/8 | $S_1$ 13/88.1 (03/170.2 sto ДФ × 07/86.84 blb ДФ) | 23 | 9 | 5 | 5/3 | 7 | 1 | 4 | 232(58,0) |
| IGC 23/11 | $S_1$ 13/90.1(08/30.12 'Norteña' sto ДФ × 07/86.72blb ДФ) | 21 | 11 | 3 | 3/3 | 8,5 | 1 | 3 | 95(31,7) |
| IGC 23/12 | $S_1$ 13/90.2(08/30.12 'Norteña' sto ДФ) × 07/86.72blbДФ) | 13 | 6 | 3 | 3/0 | - | 0 | - | - |
| IGC 23/13 | $S_1$ 14/10.3 (98/100.36 Пдг 'Альпинист' × 05/1.2 'Saphir' fen ДФ) | 13 | 6 | 3 | 3/0 | - | 0 | - | - |
| IGC 23/14 | $S_1$ 14/5.6 (98/102.12 Пдг 'Альпинист' × 07/86.72 blb ДФ) | 93 | 19 | 3 | 3/1 | 8,5 | 1 | 1 | 43(43,0) |
| IGC 23/15 | $S_1$ 14/42.3(09/7.8 Пдг 4КР × 02/181.1 sto ДФ) | 35 | 6 | 3 | 3/2 | 7-8,5 | 2 | 6 | 235(39,2) |
| IGC 23/16 | $S_1$ 14/45.5 (09/7.8 Пдг 4КР × 08/29.40 sto ДФ) | 152 | 32 | 21 | 20/13 | 8-8,5 | 5 | 20 | 554 (27,7) |
| IGC 23/17 | $S_1$ 19/262.2(18/108.1'Saphir''Norteña''Atzimba' × 05/1.3 'Saphir' fen) | 6 | 2 | 2 | 2/1 | 8,5 | 1 | 1 | 77(77,0) |
| IGC 23/18 | $S_1$17/72.4(13/31.6 'Лилея''Norteña''Atzimba' × 13/88.1,2sto blb ДФ) | 46 | 30 | 15 | 14/11 | 8-8,5 | 5 | 17 | 1154(67,9) |
| IGC 23/19 | $S_1$ 17/67.6 (07/40.1pnt fen × mix12/40.n ДФ) | 64 | 30 | 15 | 13/6 | 8-8,5 | 2 | 12 | 514(42,8) |
| IGC 23/20 | $S_1$ 19/89.4 (16/22.9 'Agria' sto ДФ × 14/33.1 'Heidrun' blb ДФ) | 151 | 26 | 12 | 7/4 | 7-8,5 | 6 | 18 | 867(48,2) |

**Таблица 4. Продолжение**

| Самоопыленные клоны $S_1$/ $S_1$ selfed clones | Происхождение/ Pedigree | Сеянцы первого года/ 1st year seedlings | | | Первая клубневая репродукция/ 1st tuber generation | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Семян, шт./ Seeds, pcs | Посажено сеянцев, шт./ Seedlings planted, pcs | Отобрано сеянцев, шт./ Seedlings selected | Посажено сеянцев/ Сеянцев с ягодами/ Seedlings planted/ seedlings with berries | Устойчивость к фитофторозу сеянцев с ягодами, баллы/ Late blight resistance of seedlings with berries, points | Отобрано сеянцев, шт/ Seedlings selected, pcs | Ягод, шт./ Berries, pcs | Семян (семян на ягоду), шт./ Seeds (seeds per berry), pcs |
| IGC 23/25 | $S_1$ 21/28.1 ($S_1$ 19/65.3 ‘Альпинист’ sto blb ДФ) | 48 | 17 | 6 | 6/0 | - | 0 | - | - |
| IGC 23/26 | $S_1$ 21/45.1 (18/83.3 blb sto ДФ ×12/40.6 ДФ) | 7 | 3 | 3 | 3/1 | - | 0 | - | - |
| IGC 23/28 | $S_1$ 18/76.1 (07/9.21 Пдг ‘Дубрава’ × 13/88.1sto blb ДФ) | 183 | 20 | 2 | 2/0 | - | 0 | - | - |
| IGC 23/29 | $S_1$ 18/83.3 (13/60.2 Пдг 52-03-16 × 13/77.3 blb sto ДФ) | 100 | 20 | 3 | 3/2 | 8 | 1 | 3 | 11 (3,7) |
| IGC 23/30 | $S_1$ 18/83.6 (13/60.2 Пдг 52-03-16 × 13/77.3 blb sto ДФ) | 53 | 15 | 6 | 7/1 | 8,5 | 1 | 4 | 132(33,0) |
| IGC 23/31 | $S_1$ 18/87.4 (Пдг ‘Манифест’ × 12/45.12 ‘Saphir’ fen ДФ) | 82 | 25 | 3 | 3/0 | - | 0 | - | - |
| IGC 23/32 | $S_2$18/83.4 (13/60.2 Пдг 52-03-16 × 13/77.3 blb sto ДФ) | 154 | 15 | 3 | 3/0 | - | 0 | - | - |
| Итого: In total: | | 1653 | 351 | 137 | 127/53 | | 30 | 105 | 4382 (41,7) |
| **Итого в эксперименте/ Total in the experiment:** | | **2116** | **454** | **167** | **156/67** | | **36** | **125** | **4699 (37,5)** |




**Рис. 2. Урожай клубней с растения у некоторых самоопыленных клонов $S_1$**
(Минск, 2025, первое клубневое поколение)
А – IGC23/15.1 = $S_1$ IGC 14/42.3 (09/7.8 Пдг 4KP × 02/181.1 sto ДФ); Б – IGC23/21.4 = $S_1$ IGC 21/6.1 (17/22.2 Пдг ‘Olga’ × 12/40.3ДФ); В – IGC 23/30.7 = $S_1$ IGC 18/83.6 (13/60.2 Пдг 52-03-16 × 13/77.3 blb sto ДФ)

**Fig. 2. Tuber yield per plant of some $S_1$ selfed clones**
(Minsk, 2025, the 1st tuber generation)
А – IGC23/15.1 = $S_1$ IGC 14/42.3 (09/7.8 Пдг 4KP × 02/181.1 sto ДФ); Б – IGC23/21.4 = $S_1$ IGC 21/6.1 (17/22.2 Пдг ‘Olga’ × 12/40.3ДФ); В – IGC 23/30.7 = $S_1$ IGC 18/83.6 (13/60.2 Пдг 52-03-16 × 13/77.3 blb sto ДФ)

Родительские диплоидные клоны, давшие начало самоопылённым клонам $S_1$, были оценены на предмет наличия ДНК-маркеров ряда генов устойчивости к болезням и вредителям (табл. 5).

Как видно из таблицы (см. табл. 5), выделенный исходный материал несет маркеры ряда ценных для селекции генов. В их числе диплоидные клоны, несущие маркеры генов устойчивости к карантинным объектам: золотистой цистообразующей картофельной нематоде, четыре клона с маркером 57R гена *H1* и 10 с маркером Gro1-4 гена *Gro1-4*, и возбудителю рака картофеля, более половины оцененных клонов с маркером NL25 гена *Sen1*. Значительная доля родительских клонов имела маркер RYSC3 гена $Ry_{adg}$ устойчивости к PVY. Характерной особенностью диплоидных клонов картофеля, использованных в работе, является высокая полевая устойчивость к фитофторозу благодаря генам устойчивости к патогену, интрогрессированным от диких видов, в частности гена широкого спектра действия *Rpi-blb1*. Маркер этого гена выявлен почти у половины диплоидных клонов, давших начало самоопылённым клонам $S_1$. В связи с этим не было неожиданным достаточно большое количество клонов $S_1$ с высокой устойчивостью к фитофторозу по данным полевых испытаний 2025 года и отобранных для получения самоопыленных клонов $S_2$ (см. табл. 4).

## Обсуждение

Исходный материал диплоидного картофеля для закладки инбредных линий должен отвечать определённым требованиям. Прежде всего, он должен иметь селекционную ценность, то есть обладать потенциалом для получения продуктивных гибридов с признаками культурного картофеля, комплексной устойчивостью к болезням и вредителям, высокими потребительскими и/или технологическими свойствами. Во-вторых, он должен быть фертильным и самосовместимым. Наконец, он должен обеспечить уровень инбредной депрессии, позволяющий сохранять жизнеспособность и фертильность нескольких поколений самоопыленных линий до достижения ими высокой степени гомозиготности.

Выбранная нами стратегия создания диплоидных инбредных линий заключается в раздельной их закладке на исходном материале, различающемся по происхождению: на основе генофонда культурного картофеля *Solanum tuberosum* L., фитофтороустойчивых межвидовых гибридов и диплоидных гибридов между этими двумя группами. Создание инбредных линий на основе генофонда культурного картофеля, линии первого типа, имеет целью «собрать» в них в максимально возможной степени достижения традиционной селекции картофеля: комплекс генов, определяющих высокую клубневую продуктивность, признаки культурного картофеля,

**Таблица 5. ДНК-маркеры генов устойчивости к болезням и вредителям у родительских клонов самоопыленных клонов $S_1$, отобранных по фертильности и самосовместимости, признакам культурного картофеля и устойчивости к фитофторозу** (Минск, 2025)

**Table 5. DNA markers of disease and pest resistance genes in parental clones of the $S_1$ selfed clones selected thanks to their fertility, self-compatibility, cultivated potato characters, and late blight resistance** (Minsk, 2025)

| Родительский клон IGC/ IGC parental clone | Линия $S_1$ IGC/ IGC $S_1$ line | ДНК маркеры/ DNA markers | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 57R | Gro1-4 | NL 25 | RYSC3 | 517/1519 | R3b |
| 13/31.15 | 23/5 | 0 | 0 | 1* | 1 | 0 | 0 |
| 14/23.1 | 23/6 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 15/47.3 | 23/7 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 13/88.1 | 23/8 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 18/84.2 | 23/10 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 13/90.1 | 23/11 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 14/5.6 | 23/14 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 14/42.3 | 23/15 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 14/45.5 | 23/16 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 19/262.2 | 23/17 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 17/72.4 | 23/18 | - | - | - | - | - | - |
| 17/67.6 | 23/19 | - | - | - | - | - | - |
| 19/89.4 | 23/20 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 21/6.1 | 23/21 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 21/13.14 | 23/22 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 21/14.1 | 23/23 | - | - | - | - | - | - |
| 18/83.3 | 23/29 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| 18/83.6 | 23/30 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |

*1 – маркер выявлен/ marker identified,
0 – маркер отсутствует/ marker absent

устойчивость к основным болезням и вредителям, прежде всего, к карантинным объектам: золотистой цистообразующей картофельной нематоде, возбудителю рака картофеля, а также к вирусам.

Создание инбредных линий на основе межвидовых гибридов, линии второго типа, призвано расширить аллельное разнообразие исходного селекционного материала, привнести в будущие гибриды новые гены устойчивости к болезням и вредителям, прежде всего, устойчивости к фитофторозу. Кроме того, такие гибриды должны иметь определенную долю генов *S. tuberosum*, необходимых для элиминации нежелательных для селекции признаков диких видов: низкой клубневой продуктивности, длинных столонов, клубней неправильной формы с глубокими глазками. Предполагается, что гибридизация между линиями этих двух групп обеспечит максимальный гетерозис.

Характерной особенностью диплоидных селекционных клонов обоих типов в настоящем исследовании является использование при их создании оригинальных линий *S. tuberosum* доноров фертильности и самосовместимости. Поскольку эти линии были получены в результате специальной селекции с применением инбридинга, в их потомстве не только возможен отбор фертильных и самосовместимых гибридов, но и менее выраженная инбредная депрессия при самоопылении гибридов, полученных с их участием.

**Исходный материал на основе межвидовых гибридов картофеля.** Проблемы пониженной фертильности диплоидного картофеля и инбредной депрессии тесно связаны (Carroll, Low, 1976; Jansky et al., 1990; M'Ribu, Veilleux, 1991; Charlesworth, Willis, 2009; Zhang et al., 2019; Bradshaw, 2022). Одним из способов решения проблемы фертильности является гибридизация мужски стерильных первичных дигаплоидов с примитивными культурными или дикими диплоидными видами картофеля (Ross et al., 1964; Hermundstad, Peloquin, 1985; Cunha et al., 1994). С одной стороны, диплоидные дикие виды обычно высоко фертильны (Budin, Gavrilenko, 1994) и выступают в скрещиваниях в качестве источников высокой фертильности. С другой стороны, эффект инбредной депрессии нивелируется за счет высокой гетерозиготности гибридов. Генетический материал, полученный на основе межвидовых гибридов и дигаплоидов *S. tuberosum*, используется в большинстве программ селекции картофеля на диплоидном уровне (Lindhout et al., 2011; 2018; Su et al., 2020; Alsahlany et al., 2021; Kaiser et al., 2021; Zhang et al. 2021).

В настоящем исследовании, как и ожидалось, получение диплоидных самоопылённых клонов было наиболее эффективным на основе селекционного материала, созданного с участием диких видов картофеля и линий-доноров фертильности и самосовместимости. Было получено 2038 семян от самоопыления 24 диплоидных клонов, для испытания отобрано 133 сеянца $S_1$. Из них по результатам полевых испытаний и оценки по признакам культурного картофеля, устойчивости к фитофторозу и самофертильности отобрали 31 клон $S_1$. Эти клоны завязали в настоящем эксперименте основную массу семян от самоопыления – 4382 шт. Полученные результаты несложно объяснить, принимая во внимание фертильность диких видов и историю создания линий-доноров фертильности и самосовместимости. Помимо высокой мужской фертильности, у этого материала представлены ДНК маркеры ценных для селекции генов устойчивости к болезням, прежде всего, гена *Rpi-blb1* устойчивости к фитофторозу широкого спектра действия (маркер 517/1519 выявлен у шести родительских клонов).

**Исходный материал на основе *Solanum tuberosum* L.** В конечном итоге, для получения самоопыленных клонов $S_2$ были отобраны пять клонов $S_1$ на основе родительских клонов, полученных с участием дигаплоидов *S. tuberosum* и линий доноров фертильности и самосовместимости. Они завязали в общей сложности 317 семян от самоопыления. У родительских клонов этих линий представлены ДНК-маркеры важных для селекции генов устойчивости к золотистой цистообразующей картофельной нематоде (два клона с маркером 57R и два с маркером Gro1-4), к возбудителю рака картофеля (два клона с маркером NL25), к PVY (два клона с маркером RYSC3). Это позволяет рассчитывать на выделение в будущем инбредных линий с этими маркерами.

Нам не удалось получить семена от самоопыления беккросса гибридов *S. tuberosum* на исходный первичный дигаплоид (см. рис. 1, схема 2) из-за их низкой мужской фертильности. Очевидно, беккросс на исходные первичные дигаплоиды возвращает гибридам характерный для них уровень инбредной депрессии. Реализация схемы 2 (см. рис. 1) в программе гетерозисной селекции имеет большое значение, так как направлена, прежде всего, на получение диплоидных клонов с комплексом ценных для селекции признаков *S. tuberosum*, в частности несущих ДНК-маркеры генов устойчивости к основным болезням и вредителям. Очевидно, для достижения этой цели целесообразно использовать схему 4 (скрещивания между гибридами типа Пдг × ДФ, несущими желаемые признаки; см. рис. 1).

Также не удалось получить семена от самоопыления $S_1$ на основе диплоидного клона IGC 13/31.15, при создании которого не были использованы линии-доноры фертильности и самосовместимости (гибрид между первичными дигаплоидами: 09/8.24 Пдг ‘Лилея’ × 12/54.1 (Пдг ‘Norteña’× Пдг ‘Atzimba’)). Тот факт, что этот клон завязал 110 семян от самоопыления в 2023 году, свидетельствует о его фертильности и вероятном наличии у него гена *Sli.* Пять из 15 высаженных в поле в 2025 году клонов $S_1$ на основе IGC 13/31.15 были способны к образованию ягод. Однако в двух ягодах отобранного по признакам культурного картофеля клона $S_1$ IGC 23/5.4 не оказалось выполненных семян. Причин отрицательного результата при получении семян $S_2$ у этого самоопыленного клона может быть несколько: небольшое количество пыльцы, ее невысокая фертильность, наконец, недостаточно эффективное функционирование варианта гена *Sli* от *S. tuberosum* (Sanetomo et al., 2025). Более высокую надежность в процессе создания инбредных линий показали диплоидные клоны, полученные с использованием линий доноров фертильности и самосовместимости.

**Использование линий доноров фертильности и самосовместимости.** Характерной особенностью диплоидного картофеля является гаметофитная самонесовместимость, связанная с функционированием S-локуса, локализованного на хромосоме I, что препятствует получению инбредных линий даже в случае наличия фертильного исходного материала. Для решения этой проблемы в современных программах диплоидной селекции картофеля (Lindhout et al., 2011; 2018; Su et al., 2020; Alsahlany et al., 2021; Kaiser et al., 2021; Zhang et al., 2021) чаще всего используют линии дикого диплоидного вида *S. chacoense,* несущие ген *Sli* (ингибитор S-локуса) (Phumichai et al., 2005; Jansky et al., 2014; Song, Endelman, 2023). Однако наряду с целевым геном гибридам передается значительная доза генетического материала дикого вида, связанного с нежелательными признаками: низкой продуктивностью, многочисленными длинными столонами, позднеспелостью, повышенным содержанием в клубнях алкалоидов. Поэтому для успешной интрогрессии гена *Sli* требуется дополнительная селекция на основе беккросса межвидовых гибридов на диплоидные формы культурного картофеля.

В связи с существенным расширением знаний о механизмах гаметофитной самонесовместимости/самосовместимости у диплоидного картофеля предложен ряд молекулярно-генетических подходов конверсии самонесовместимого селекционного материала в самосовместимый путем манипуляций с генами, вовлеченными в эти процессы (Kardile et al., 2022).

Принимая во внимание методическую сложность этого подхода и использование генной инженерии, что не приветствуется общественностью во многих странах, в качестве альтернативы предлагается поиск доноров гена *Sli* среди имеющегося продвинутого в селекционном плане диплоидного материала (Kaiser et al., 2021). Установление факта широкой представленности гена-гомолога *Sli* в генетическом пуле *S. tuberosum* (Clot et al., 2020) и разработка ДНК-маркеров для его идентификации делают этот подход к получению диплоидного селекционного материала, обладающего самофертильностью, наиболее перспективным (Clot et al., 2020; Kaiser et al., 2021). По сути, именно этот подход был реализован нами (без примене-

ния соответствующих ДНК маркеров) (Yermishin, 2000; Yermishin, Voronkova, 2017). Среди диплоидного селекционного материала, отличного по происхождению от *S. chacoense,* был выделен образец-донор гена самосовместимости, который был использован в рамках программы селекции на функциональную фертильность пыльцы с привлечением преимущественно генофонда культурного картофеля. Созданные в результате линии-доноры фертильности и самосовместимости выгодно отличаются от инбредных линий *S. chacoense* с геном самосовместимости *Sli*, так как они имеют генетическую основу *S. tuberosum*.

В рамках настоящего исследования только две схемы получения исходного материала для закладки инбредных линий оказались недостаточно эффективными: схема 2 (беккросс гибридов *S. tuberosum* × доноры фертильности и самосовместимости на исходный первичный дигаплоид; см. рис. 1) и схема 3 (беккросс гибридов *S. tuberosum* на доноры фертильности и самосовместимости; см. рис. 1). В последнем случае полученные гибриды, несмотря на фертильность и самосовместимость, показали неудовлетворительное проявление признаков культурного картофеля (длинные столоны), характерное, в некоторой степени, для родительских ДФ-линий. С одной стороны, неудовлетворительные результаты можно объяснить небольшим количеством гибридов от комбинаций скрещивания в рамках схем 2 и 3 (см. рис. 1), использованных в работе. С другой стороны, очевидно, что линии доноры-фертильности и самосовместимости требуют дальнейшего селекционного улучшения.

Интересно было сравнить результативность отбора самоопыленных клонов $S_1(F_2)$ при использовании исходного материала в настоящем исследовании и аналогичными показателями, представленными в работах других авторов, в частности в статье P. Lindhout с соавторами (Lindhout et al., 2011) (исходный материал: гибриды между элитным диплоидным клоном D2 и донором фертильности и самосовместимости DS-клоном *S. chacoense*, получены от Dr. K. Hosaka, Japan). На уровне сеянцев нами было отобрано по признакам культурного картофеля 167 сеянцев $S_1(F_2)$ из 454 посаженных, что составило 36,7%. На уровне первого клубневого поколения 67 сеянцев из 156 посаженных образовали ягоды от самоопыления (42,9%), из которых было отобрано по признакам культурного картофеля и полевой устойчивости к фитофторозу 36 сеянцев (23,1% от числа высаженных в поле, или 7,9% от исходного количества (454 шт.) сеянцев первого года (см. табл. 4). В исследовании Lindhout с соавторами (Lindhout et al., 2011) 5598 сеянцев гибридной популяции $F_2$ DS × D2 после подращивания в теплице были высажены в виде рассады непосредственно в поле. Из них около 500 сеянцев завязали ягоды от самоопыления (8,9%), из которых по признакам культурного картофеля был отобран 51 сеянец (0,9%) для получения последующих поколений самоопыления. Несложно заметить, что использованный в настоящем исследовании исходный материал в селекционном плане заметно превосходил гибриды с донорами фертильности и самосовместимости *S. chacoense*, полученные Lindhout с соавторами (Lindhout et al., 2011). Уже среди самоопыленных клонов $S_1$ стал возможен отбор относительно продуктивных линий с признаками культурного картофеля (см. рис. 2).

Процесс создания инбредных линий будет способствовать селекционному улучшению имеющегося диплоидного исходного материала в целом, прежде всего, за счет концентрации ценных для селекции аллелей и элиминации груза неблагоприятных мутаций. Максимально повысить его эффективность можно благодаря использованию современных методов геномной селекции (Zhang et al., 2021). Поскольку история селекции картофеля, связанной с созданием диплоидных гетерозисных гибридов, совсем короткая (Jansky, Spooner, 2018), потребуется много лет усилий селекционеров и генетиков, чтобы получить исходный материал, в полной мере отвечающий названным выше требованиям.

## Заключение

Использованная в работе коллекция диплоидного картофеля пригодна для закладки инбредных линий. Наиболее эффективными являются схемы создания исходного материала на основе межвидовых гибридов и оригинальных линий *Solanum tuberosum*, являющихся донорами фертильности и самосовместимости. Получены семена от самоопыления фертильных самосовместимых клонов $S_1$ на основе исходных диплоидных клонов, несущих ДНК-маркеры ряда ценных для селекции генов устойчивости к болезням и вредителям.

## References/Литература


Alsahlany M., Enciso-Rodriguez F., Lopez-Cruz M., Coombs J., Douches D.S. Developing self-compatible diploid potato germplasm through recurrent selection. *Euphytica*. 2021;217:47. DOI: 10/1007/s10681-021-02785-0

Bradshaw J.E. Breeding diploid F1 hybrid potatoes for propagation from botanical seed (TPS): comparisons with theory and other crops. *Plants*. 2022;11:1121. DOI: 10.3390/plants11091121

Budin K.Z., Gavrilenko T.A. Genetic basis of remote hybridization in potato (Review). *Russian Journal of Genetics*. 1994;30(10):1225-1233.

Carroll C.P., Low R.J. Aspects of male fertility in group Tuberosum dihaploids. *Potato Research*. 1976;19:109-121. DOI: 10.1007/bf02360411

Charlesworth D., Willis J.H. The genetics of inbreeding depression. *Nature Reviews Genetics.* 2009;10:783-796. DOI: 10.1038/nrg2664

Clot C.R., Polzer C., Prodhomme C., Schuit C., Engelen C.M.E., Hutten R.C.B., van Eck H.E. The origin and widespread occurrence of *Sli*-based self-compatibility in potato. *Theoretical and Applied Genetics*. 2020;133:2713-2728. DOI: 10.1007/s00122-020-03627-8

Cunha A.L., Pinto B.P., Davide L.C. Flowering and 2n pollen production in dihaploid *Solanum tuberosum* and *Solanum chacoense* hybrids. *Review of Brazilian Genetics*. 1994;17(3):305-308.

De Maine M.J. Potato haploid technologies. Ch.2.35. In: M. Maluszynsky, K.J. Kasha, B.P. Forster, I. Szarejka (eds) *Doubled haploids production in crop plants. A Manual.* USA: Kluwer Academic Publishers; 2003. p.241-247.

Gebhardt C., Bellin D., Henselewski H., Lehmann W., Schwarzfischer J., Valkonen J.P.T. Marker-assisted combination of major genes for pathogen resistance in potato. *Theoretical and Applied Genetics*. 2006;112(8):1458-1464. DOI: 10.1007/s00122-006-0248-8

Hermundstad S.A., Peloquin S.J. Germplasm enhancement with potato haploids. *Journal of Heredity*. 1985;76:463-467. DOI: 10.1093/oxfordjournals.jhered.a110146.

Lindhout P., Meijer D., Schotte T., Hutten R.C.B., Visser R.G.F., van Eck H.J. Towards F1 hybrid seed potato breeding. *Potato Research*. 2011;54:301-312. DOI: 10.1007/s11540-011-9196-z

Lindhout P., de Vries M.E., ter Maat M., Ying Su, Viques-Zamora M., van Heusden S. Hybrid potato breeding for improved varieties. In: G. Wang-Pruski (ed.). *Achieving sustainable cultivation of potatoes. Vol. 1. Breeding improved varieties*. Canada: Burleigh Dodds Science Publishing, Dalhousie University; 2018. p.99-123. DOI: 10.19103/AS2016.0016.04

Jansky S.H., Charkowski A.O., Douches D.S., Gusmini G., Richarl C., Bethke P.C., Spooner D.M., Novy R.G., De Jong H., De Jong W.S., Bamberg J.B., Thompson L., Bizimungu B., Holm D.G., Brown C.R., Haynes K.G., Sathuvalli V.R., Veilleus R.E., Miller J.C. Jr., Bradeen J.M., Jiang J. Reinventing potato as a diploid inbred line-based crop. *Crop Science*. 2016;56:1-11. DOI: 10.2135/cropsci2015.12.0740

Jansky S.H., Chungand Y., Kittipadukal P. M6: a diploid potato inbred line for use in breeding and genetics research. *Journal of Plant Registrations*. 2014;8(2):195-199. DOI: 10.3198/jpr2013.05.0024crg

Jansky S.H., Peloquin S.J., Yerk G.L. Use of potato haploids to put 2x wild species germplasm in usable form. *Plant Breeding*. 1990;104:290-294. DOI: 10.1111/j.1439-0523.1990.tb00438.x

Jansky S.H., Spooner D.M. The evolution of potato breeding. In: *Plant Breeding Reviews*. *First Edition*. John Wiley & Sons Inc.; 2018. Vol. 41. p.169-214. DOI: 10.1002/9781119414735.ch4

Kaiser N.R., Jansky S., Coombs J.J., Collins P., Alsahlany M., Douches D.S. Assessing the contribution of *Sli* to self-compatibility in North American diploid potato germplasm using KASP™ markers. *American Journal of Potato Research*. 2021;98:104-113. DOI: 10.1007/s12230-021-09821-8

Kardile H., Yilma S., Sathuvalli V. Molecular approaches to overcome self-incompatibility in diploid potatoes. *Plants*. 2022;11(10):1328-1342. DOI: 10.3390/plants11101328

Kasai K., Morikawa Y., Sorri V.A., Valkonen J.P., Gebhardt C., Watanabe K.N. Development of SCAR markers to the PVY resistance gene *Ryadg* based on a common feature of plant *disease* resistance genes. *Genome*. 2000;43(1):1-8. DOI: 10.1139/g99-092

Kostrica P., Domkarova J. Possibilities of indirect determination of the ploidy in potato regenerants *in vitro*. *Rostlinna Viroba UZPI*. 1993;39(2):139-148.

M'Ribu H.K., Veilleux R.E. Phenotypic variation and correlations between monoploids and doubled monoploids of *Solanum phureja. Euphytica*. 1991;54:279-284. DOI: 10.1007/BF00023004

Phumichai C., Mori M., Kobayashi A., Kamijima O. Hosaka K. Toward the development of highly homozygous diploid potato lines using the self-compatibility controlling *Sli* gene. *Genome*. 2005;48(4):977-984. DOI: 10.1139/g05-066

Rietman H., Bijsterbosch G., Cano L.M., Lee H-R., Vossen J.H., Jacobsen E., Visser R.G.F., Kamoun S., Vleeshouwers V.G.A.A. Qualitative and quantitative late blight resistance in the potato cultivar Sarpo Mira is determined by the perception of five distinct RXLR effectors. *Molecular Plant-Microbe Interaction*. 2012;25(7):910-919. DOI: 10.1094/MPMI-01-12-0010-R

Ross R.W., Peloquin S.J., Hougas R.W. Fertility of hybrids from *Solanum phureja* and haploid *S. tuberosum* matings. *European Potato Journal*. 1964;7:81-89.

Sanetomo R., Asai I., Yasuga A., Suzuki K., Yamashita M., Hosaka K. Characterization of the *Solanum tuberosum*-derived *Sli* gene. *Euphytica* 2025;221:156. DOI: 10.1007/s10681-025-03609-1

Schultz L., Cogan N.O.I., McLean K., Dale M.F.B., Bryan G.J., Forster J.W., Slater A.T. Evaluation and implementation of a potential diagnostic molecular marker for H1-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

Song L., Endelman J.B. Using haplotype and QTL analysis to fix favorable alleles in diploid potato breeding. *Plant Genome*. 2023;16(2):e20339. DOI: 10.1002/tpg2.20339

Su Y., Viquez-Zamora M., den Uil D., Sinnige J., Kruyt H., Vossen J., Lindhout P., van Heusden S. Introgression of genes for resistance against *Phytophthora infestans* in diploid potato. *American Journal of Potato Research*. 2020;97(1):33-42. DOI: 10.1007/s12230-019-09741-8

Vexler L., de la O Leyva-Perez M., Konkolewska A., Clot C.R., Byrne S., Griffin D., Ruttink T., Hutten R.C.B., Engelen C., Visser R.G.F., Prigge V., Wagener S., Lairy-Joly G., Driesprong J.-D., Sundmark E.H.R., Rookmaker A.N.O., van Eck H.J., Milbourne D. QTL discovery for agronomic and quality traits in diploid potato clones using PotatoMASH amplicon sequencing. *G3 (Bethesda). Genes. Genomes. Genetics.* 2024;14(10):jkae164. DOI: 10.1093/g3journal/jkae164

Wang M., Allefs S., van den Berg R.G., Vleeshouwers V.G.A.A., van der Vossen E.A.G., 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

Yermishin A.P. The development of initial parental material for breeding disease resistant potatoes at the diploid level. *Plant Breeding and Seed Science*. 2000;44(1):105-115.

Yermishin A.P., Polyukhovich Yu.V., Voronkova E.V., Gukasyan O.N. SvSv-lines is an effective tool for involvement of the valuable genepool of 1 EBN diploid potato species into breeding. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2017;21(1):42-50. [in Russian] (Ермишин А.П., Полюхович Ю.В., Воронкова Е.В., Гукасян О.Н. SvSv-линии – эффективный инструмент для вовлечения в селекцию ценного генофонда 1 EBN диких диплоидных видов картофеля. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2017;21(1):42-50). DOI: 10.18699/VJ17.222

Yermishin A.P., Voronkova E.V. Development of initial material for marker assisted potato (*Solanum tuberosum* L.) parental line breeding at the diploid level (review) *Agricultural Biology*. 2017;52(1):50-62. DOI: 10.15389/agrobiology.2017.1.50eng

Yermishin A.P., Voronkova E.V., Luksha V.I., Polyukhovich Yu.V., Levy A.V., Gukasyan O.N., Zharich V.M. Collection of diploid potato of the Institute of Genetics and Cytology of Belarusian Academy of Sciences (Kollektsiya diploidnogo kartofelia Instituta Genetiki i Tsitologii NAN Belarusi). Minsk: Institut genetiki i tsitologii NAN Belarusi; 2020. [in Russian] (Ермишин А.П., Воронкова Е.В., Лукша В.И., Полюхович Ю.В., Левый А.В., Гукасян О.Н., Жарич В.М. Коллекция диплоидного картофеля Института генетики и цитологии НАН Беларуси. Минск: Институт генетики и цитологии НАН Беларуси; 2020).

Yermishin A.P., Voronkova E.V., Kozlov V.A., Polyukhovich Yu.V., Luksha V.I., Levy A.V., Yakovleva G.A., Semanyuk T.A., Dubinich V.L., Rod'kina I.A.: A.P. Yermishin (ed.). Interspecific hybridization in potato breeding (Mezhvidovaya gibridizatsiya v selektsii kartofelya). Minsk: Byelaruskaya navuka; 2021. [in Russsian] (Ермишин А.П., Воронкова Е.В., Козлов В.А., Полюхович Ю.В., Лукша В.И., Левый А.В., Яковлева Г.А., Семанюк Т.А., Дубинич В.Л., Родькина И.А. Межвидовая гибридизация в селекции картофеля/ под ред. А.П. Ермишина. Минск: Беларуская навука; 2021).

Zhang C., Wang P., Tang D., Yang Z., Lu F., Qi J., Tawari N.R., Shang Y., Li C., Huang S. The genetic basis of inbreeding depression in potato. *Nature Genetics*. 2019;51:374-378. DOI: 10.1038/s41588-018-0319-1

Zhang C., Yang Z., Tang D., Zhu Y., Wang P., Li D., Zhu G., Xiong X., Shang Y., Li C., Huang S. Genome design in diploid potato. *Cell*. 2021;184:3873-3883. DOI: 10.1016/j.cell.2021.06.006.

Zienkiewicz M. Bayer and Solynta are bringing hybrid true potato seeds to smallholder markets. *Seed World.* 2024.

## *Информация об авторах*

**Александр Петрович Ермишин,** доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, лаборатория нехромосомной наследственности, Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, 220072 Республика Беларусь, Минск, ул. Академическая, 27, ermishin@igc.by, https://orcid.org/0000-0002-3106-4926
**Елена Васильевна Воронкова,** кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория нехромосомной наследственности, Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, 220072 Республика Беларусь, Минск, ул. Академическая, 27, e.voronkova@igc.by, https://orcid.org/0000-0001-9747-8622
**Ольга Николаевна Гукасян,** научный сотрудник, лаборатория нехромосомной наследственности, Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, 220072 Республика Беларусь, Минск, ул. Академическая, 27, gukasyan.olya@bk.ru, https://orcid.org/0009-0006-9795-8363

## *Information about the authors*

**Alexander P. Yermishin,** Dr. Sci. (Biology), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Nonchromosomal Heredity, Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, 27, Akademicheskaia Street, Minsk, 220072 Belarus, ermishin@igc.by, https://orcid.org/0000-0002-3106-4926
**Elena V. Voronkova,** Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Nonchromosomal Heredity, Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, 27, Akademicheskaia Street, Minsk, 220072 Belarus, e.voronkova@igc.by, https://orcid.org/0000-0001-9747-8622
**Olga N. Gukasian,** Researcher, Laboratory of Nonchromosomal Heredity, Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, 27, Akademicheskaia Street, Minsk, 220072 Belarus, gukasyan.olya@bk.ru, https://orcid.org/0009-0006-9795-8363

***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 02.12.2025; одобрена после рецензирования 25.05.2026; принята к публикации 11.08.2026.
The article was submitted on 02.12.2025; approved after reviewing on 25.05.2026; accepted for publication on 11.08.2026.

**Научная статья**
**УДК 633.111:575.17:577.29**
**DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o8**

(cc) BY

# Характеристика полиморфизма в новых SSR-локусах, ассоциированных с признаком скрещиваемости пшеницы с рожью, контролируемым генами *SKr* и *Kr1*

**И. В. Поротников, О. Ю. Антонова, О. П. Митрофанова**

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

***Автор, ответственный за переписку:*** Игорь Вадимович Поротников, i.v.porotnikov@gmail.com

**Актуальность.** Поиск с помощью ДНК-маркеров генотипов с аллелями генов, определяющих высокую скрещиваемость мягкой пшеницы (МП) с рожью, а также их контролируемая передача в другие генотипы остаются пока нерешенными проблемами. Задачи данного исследования: 1) идентификация *in silico* новых SSR-локусов с мотивами в 3-4 пн, расположенных в участках локализации генов *SKr* и *Kr1,* контролирующих скрещиваемость МП с рожью, разработка и апробация специфичных праймеров для амплификации последовательностей в этих локусах; 2) характеристика вариабельности фрагментов ДНК в SSR-локусах в выборке из образцов гексаплоидной пшеницы; 3) определение диагностической эффективности аллелей SSR-локусов в выявлении генотипов МП с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью, а также уточнение характера полиморфизма участков ДНК, ассоциированных с генами *SKr* и *Kr1*. **Материалы и методы.** Основой для исследования послужил референсный геном МП сорта ‘Chinese Spring’. Поиск SSR-локусов проводили *in silico*. Апробацию разработанных или взятых из литературы праймеров для выявления полиморфизма в SSR-локусах осуществляли с использованием тестовой выборки из 16 образцов МП разного географического происхождения. Для генотипирования выборки суммарно использовали 16 пар праймеров. Характеристика SSR-локусов дана на основе анализа 69 линий МП и девяти линий синтетической гексаплоидной пшеницы, из которых 51 была с высокой (25-100%) и 27 с низкой (0-9%) скрещиваемостью с рожью. **Результаты.** Разработаны специфичные праймеры для амплификации последовательностей 14 SSR-локусов с мотивами в 3-4 пн, находящихся в участках генома CS, в которых локализованы гены *SKr* и *Kr1.* Полиморфными оказались два локуса, ассоциированные с геном *SKr*, и четыре – с *Kr1.* Диагностической эффективностью в идентификации генотипов МП с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью обладали аллели SSR-локуса *Xvir1* (*Ef*=82,3%) – маркера гена *SKr,* а также SSR-локусов *Xvir9* (*Ef*=66,7%) и *Xvir10* (*Ef*=72,5%), ассоциированных с геном *Kr1.* Совместное использование аллелей локусов позволило точнее описать полиморфизм участков локализации генов *SKr* и *Kr1*, а также дифференцировать линии МП с учетом их географического происхождения и скрещиваемости с рожью. **Заключение.** Выявленные *in silico* новые полиморфные SSR-локусы с повторяющимися мотивами в 3-4 пн, расположенные на участках локализации генов *SKr* и *Kr1,* могут быть ценным инструментом для дальнейшего позиционного клонирования этих генов. Их можно также использовать при подборе пар для скрещиваний и в контроле передачи аллелей, сопряженных с «высокой скрещиваемостью с рожью» в другие генотипы мягкой пшеницы.

***Ключевые слова*:** *Triticum aestivum* L., SSR-маркеры, диагностическая эффективность, анализ *in silico*

***Благодарности:*** Работа выполнена в рамках Государственного задания согласно тематическому плану ВИР по теме № FGEM-2022-0008: «Использование комплекса современных методов ДНК-генотипирования и молекулярного скрининга для изучения генетических ресурсов культурных растений, их диких сородичей и форм собственной селекции»

***Для цитирования:*** Поротников И.В., Антонова О.Ю., Митрофанова О.П. Характеристика полиморфизма в новых SSR-локусах, ассоциированных с признаком скрещиваемости пшеницы с рожью, контролируемым генами *SKr* и *Kr1. Биотехнология и селекция растений*. 2026;9(3):46-60. DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o8

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.

© Поротников И.В., Антонова О.Ю., Митрофанова О.П., 2026

**Original article**
**DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o8**

# Characterization of polymorphism in new SSR loci associated with the wheat-rye crossability trait controlled by the *SKr* and *Kr1* genes

**Igor V. Porotnikov, Olga Yu. Antonova, Olga P. Mitrofanova**

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

***Corresponding author:*** Igor V. Porotnikov, i.v.porotnikov@gmail.com

**Background.** The DNA-marker assisted identification of bread wheat (BW) genotypes carrying alleles for high crossability with rye, along with the controlled transfer of these alleles into new genetic backgrounds remains a significant challenge. The objectives of the present study were: (1) to identify *in silico* new SSR loci with 3-4 bp motifs within the *SKr* and *Kr1* genomic regions; to develop and test specific primers for amplifying sequences at these loci; (2) to characterize variability of DNA fragments in SSR loci using samples of hexaploid wheat accessions; and (3) to evaluate the diagnostic efficiency of alleles of SSR loci for identifying BW genotypes with high/low crossability with rye, as well as to clarify the nature of DNA polymorphism in the *SKr* and *Kr1* regions. **Materials and Methods.** The reference genome of the BW cv. 'Chinese Spring' served as the basis for the study. SSR loci were identified *in silico*. The primers developed or taken from the literature for detecting polymorphic SSR loci were tested on a panel of 16 BW accessions of different geographic origin. A total of 16 primer pairs were used for genotyping. SSR loci were characterized based on the analysis of 69 BW lines and nine synthetic hexaploid wheat lines, of which 51 had high (25-100%) and 27 had low (0-9%) crossability with rye. **Results**. Specific primers were developed for amplifying sequences of 14 SSR loci with 3-4 bp motifs within the CS genomic regions containing the *SKr* and *Kr1* genes. Among these, two SSR loci associated with *SKr* and four associated with *Kr1* were polymorphic. The alleles of the SSR locus *Xvir1* (*Ef*=82.3%) of the *SKr* gene, as well as SSR loci *Xvir9* (*Ef*=66.7%) and *Xvir10* (*Ef*=72.5%) associated with the *Kr1* gene, demonstrated diagnostic efficiency in identifying BW genotypes with high/low crossability with rye. The combined use of these alleles of SSR loci allowed for a more precise description of polymorphism in the *SKr* and *Kr1* regions and differentiation of BW lines based on their geographic origin and crossability with rye. **Conclusion.** The new polymorphic SSR loci with repeating 3-4 bp motifs, identified *in silico* within the *SKr* and *Kr1* genomic regions, represent a valuable tool for the positional cloning of these genes. Furthermore, they can be used in selecting parental pairs for crossing and in monitoring the transfer of «high crossability with rye» alleles to other BW genotypes.

***Keywords***: *Triticum aestivum* L., SSR-markers, diagnostic efficiency, analysis *in silico*

***Acknowledgements:*** The research was performed within the framework of the State Assignment according to the Theme Plan of VIR, on the topic No. FGEM-2022-0008: "The use of a complex of modern methods of DNA-genotyping and molecular screening to study the genetic resources of cultivated plants, their wild relatives and forms of own breeding".

***For citation:*** Porotnikov I.V., Antonova O.Yu., Mitrofanova O.P. Characterization of polymorphism in new SSR loci associated with the wheat-rye crossability trait controlled by the *SKr* and *Kr1* genes. *Plant Biotechnology and Breeding.* 2026;9(3):46-60. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-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.

© Porotnikov I.V., Antonova O.Yu., Mitrofanova O.P., 2026

## Введение

В настоящее время для изучения внутривидового разнообразия растений и генотипирования широко используют маркеры, микросателлиты, которые представлены полиморфными участками ДНК с короткими тандемными повторами (Simple Sequence Repeats, SSRs), имеющими мотивы размером от 1 до 6 пн. Число тандемных повторов мотива в SSR-локусах может доходить до нескольких десятков (Tautz, Renz, 1984; Li et al., 2002). При этом даже у представителей одного вида эта величина может сильно варьировать, что напрямую связано с происхождением генотипов, их адаптацией к различным эколого-географическим условиям (Roussel et al., 2004; Mitrofanova et al., 2009; Samarina et al., 2024). В зависимости от длины, то есть суммарного числа нуклеотидов в тандемно повторяющихся мотивах, микросателлиты относят к классу I (≥20 пн) или классу II (≤19 пн). Высоким полиморфизмом обладают в основном микросателлиты класса I, частота мутаций которых значительно превышает ожидаемый уровень спонтанного мутирования (Temnykh et al., 2001; Thuillet et al., 2002).

Необходимо отметить, что SSR-анализ, позволяющий выявлять вариабельность микросателлитов, имеет свою методическую особенность. В процессе амплификации микросателлитных последовательностей за счет «проскальзывания» ДНК полимеразы могут возникать статтеры – ампликоны, отличающиеся от целевого пика на один или несколько повторяющихся мотивов (Tautz, Renz, 1984; Daunay et al., 2019). При этом в случае микросателлитов с мотивами в 3-6 пн таких статтеров образуется существенно меньше, чем в случае с моно- и динуклеотидными мотивами. Как следствие, точность интерпретации результатов при анализе SSR-маркеров с повторяющимся мотивом в 1-2 пн ниже, чем с мотивами в 3-6 пн, а трудоемкость выше (Pompanon et al., 2005; Daunay et al., 2019).

Маркеры, разработанные на основе микросателлитов, или SSR-маркеры, успешно используют для молекулярно-генетических исследований многих культурных растений, в том числе мягкой пшеницы (МП) *Triticum aestivum* L. (Leonova, 2013). Именно SSR-маркеры наряду с RFLP-маркерами (Restriction Fragment Length Polymorphism) были основным инструментом для создания молекулярно-генетических карт МП и локализации на них генов хозяйственно ценных признаков, включая гены, контролирующие скрещиваемость пшеницы с рожью (Röder et al., 1998; Tixier et al., 1998).

Известно, что основной вклад в контроль признака скрещиваемости пшеницы с рожью вносят гены *SKr* и *Kr1* (Lein, 1943; Tixier et al., 1998; Bertin et al., 2009). Доминантные аллели этих генов, являющиеся функциональными, ингибируют рост пыльцевых трубок ржи в завязи пестика пшеницы. Присутствие рецессивных аллелей, нефункциональных, сопряжено с высокой скрещиваемостью: завязываемость гибридных зерновок составляет более 30% (Lein, 1943; Lange, Wojciechowska, 1976). Для выявления таких генотипов МП мы решили методом анализа *in silico* провести поиск микросателлитных повторов, расположенных в участках локализации генов *SKr* и *Kr1,* и разработать праймеры для амплификации этих последовательностей. Наш выбор SSR-маркеров обусловлен тем, что, с одной стороны, с их помощью можно точнее охарактеризовать изменчивость участков ДНК в местах расположения генов *Kr1* и *SKr*, а с другой стороны, выявить аллели SSR-маркеров (SSR-локусов), ассоциированные с проявлением признака скрещиваемости пшеницы с рожью.

Известно, что ген *SKr* расположен в коротком плече хромосомы 5B МП и фланкирован маркерами GBR0233 и gene13 (Alfares et al., 2009; Bouguennec et al., 2018). Другой ген, *Kr1,* локализован в длинном плече этой же хромосомы между EST-SSR локусами *Xw5145* и *DR740708* (Bertin et al., 2009). Для гена *SKr* описаны сцепленные SSR-локусы *cfb341* и *cfb306*, аллели которых успешно применяют при контроле передачи признака «высокая скрещиваемость с рожью» (Alfares et al., 2009; Bouguennec et al., 2018). Из них аллели SSR-локуса *cfb341*, содержащие повторяющийся мотив в 6 пн, используют как диагностические для выявления совместимых с рожью форм (Bouguennec et al., 2018; Porotnikov et al., 2022; 2025). На сегодняшний день для гена *Kr1* известен только один ассоциированный с ним SSR-локус *Xgwm213* (Bertin et al., 2009). Следует отметить, что SSR-локусы *cfb306* и *Xgwm213* представлены динуклеотидными повторами, что, как было отмечено выше, методически осложняет анализ при проведении генотипирования с их помощью. Гены *SKr* и *Kr1* не клонированы, нет данных об их взаимодействии. Идентификация SSR-локусов и разработка праймеров для амплификации их последовательностей позволит насытить участки локализации генов *SKr* и *Kr1* новыми маркерами и тем самым заложит основы для их позиционного клонирования.

Задачи работы: 1) провести поиск *in silico* SSR-локусов с повторяющимися мотивами в 3-6 пн для участков локализации генов *SKr* и *Kr1,* разработать и апробировать специфичные праймеры для амплификации выявленных микросателлитных последовательностей; 2) охарактеризовать SSR-локусы на репрезентативной выборке образцов гексаплоидной пшеницы из коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), различающихся по уровню скрещиваемости с рожью; 3) в случае ассоциации определенных аллелей SSR-локусов с высоким/низким уровнем скрещиваемости, определить их диагностическую эффективность, а также уточнить характер полиморфизма участков ДНК, ассоциированных с генами *SKr* и *Kr1*.

## Материалы и методы

**Растительный материал.** Для апробации праймеров для SSR-локусов, в том числе разработанных нами,

использовали тестовую выборку из 16 образцов МП разного географического происхождения и уровня скрещиваемости с рожью (Rigin, 1976; Zeven, 1987; Rui et al., 1995; Pyukkenen, 2007; Porotnikov et al., 2022; 2025), полученных из коллекции генетических ресурсов растений ВИР. Восемь образцов из Афганистана (1), Китая (3), Монголии (1), Пакистана (1), России (1) и Японии (1) характеризовались высокой завязываемостью гибридных зерновок. Остальные образцы имели низкую скрещиваемость, они происходили из Болгарии (1), Великобритании (1), Пакистана (2), России (2), США (1) и Франции (1). Материалом для исследования послужили 69 линий, заложенных от отдельных растений 64 образцов МП коллекции ВИР, фенотипированных по способности скрещиваться с рожью и имеющих различное географическое происхождение (Приложение/ Supplement[1]). При этом для пяти образцов (к-29045, к-38587, к-52950, к-69059, к-69062), гетерогенных по морфологическим признакам растений или по уровню скрещиваемости с рожью, было отобрано по две линии. Кроме того, в анализ были включены девять линий синтетической гексаплоидной пшеницы, СГП (× *Aegilotriticum* P. Fourn). Образцы СГП созданы в International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT, Мексика) путем скрещивания образцов твердой пшеницы *T. durum* Desf. с различными представителями дикорастущего диплоидного эгилопса *Aegilops tauschii* L. и удвоения числа хромосом у гибридных форм. Они имеют тот же геномный состав и число хромосом, что и мягкая пшеница (2*n*=6*x*=42, AABBDD), хорошо с ней скрещиваются, но отличаются от нее по аллелям многих генов. Родословные использованных образцов СГП приведены в каталоге (Khakimova et al., 2019). Условно линии были объединены в две группы (см. Приложение/ see the Supplement): 51 линия с высокой (25-100%) и 27 с низкой (0-9%) скрещиваемостью с рожью. Данное свойство линий было определено нами, а ранее другими исследователями (Pisarev, 1960; Rigin, 1976; Surikov, Kissel, 1980; Rekhmetulin, 1987; Zeven, 1987; Rui et al., 1995; Pyukkenen, 2007; Alfares et al., 2009; Bertin et al., 2009; Porotnikov et al., 2022; 2025).

**Фенотипирование по признаку скрещиваемости с рожью**. Гибридизацию МП и СГП с рожью проводили в поле НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» в июне-июле 2020-2023 годов. Растения МП и СГП использовали как материнские формы. Опылителями служили сорта озимой диплоидной ржи ‘Ильмень’ (к-11000) и ‘Сударушка’ (к-11891) и ярового сорта ‘Prolific’ (к-9369). Опыление кастрированных колосьев проводили твел-методом (“twirl method”) согласно методическим указаниям А.Ф. Мережко с соавторами (Merezhko et al., 1973). Уровень скрещиваемости с рожью определяли, как процент завязавшихся гибридных зерновок от общего числа кастрированных, а затем опыленных цветков в колосе.

Под «высокой» скрещиваемостью понимали завязываемость 25-100%, «низкой» – 0-10%. Разбиение на эти два класса базируется на данных, полученных A. Lein (Lein, 1943), по завязываемости зерновок при опылении рожью растений $F_2$, различающихся по доминантным и рецессивным аллелям двух генов скрещиваемости (*Kr1Kr1Kr2Kr2* – до 10%, *Kr1Kr1kr2kr2* – 10-30%, *kr1kr1Kr2Kr2* – 30-50%, *kr1kr1kr2kr2* – более 50%). Мы преднамеренно из дальнейшего анализа исключали линии со скрещиваемостью от 11 до 24%, чтобы четко разграничить выделяемые нами два фенотипических класса. Следует отметить, что и в других работах по анализу сцепления ДНК-маркеров с генами *SKr* и *Kr1* также выделяли альтернативные группы (Tixier et al., 1998; Bertin et al., 2009; Bouguennec et al., 2018).

**Анализ *in silico***. Основой для исследования послужил референсный геном мягкой пшеницы сорта ‘Chinese Spring’ (IWGSC CS, 2021). Сорт ‘Chinese Spring’ (CS) характеризуется высокой скрещиваемостью с рожью (Rigin, 1976). Немаловажным был тот факт, что именно с участием CS были картированы SSR-локусы, ответственные за скрещиваемость МП с рожью, в том числе и гены *SKr* и *Kr1* (Alfares et al., 2009; Bertin et al., 2009).

Поиск SSR-локусов осуществляли с помощью программы Unipro UGENE v.50.0 (Okonechnikov et al., 2012). Разработку праймеров для амплификации последовательностей SSR-локусов выполняли при помощи инструмента Primer-BLAST (Ye et al., 2012), позволяющего учитывать специфичность отжига праймеров в геноме CS. Качество праймеров контролировали, используя ресурс OligoAnalyzer™ Tool, доступный на онлайн-платформе Integrated DNA Technologies (IDT, США, 2025). Подбор праймеров проводили таким образом, чтобы размер ПЦР-продукта был не более 350 пн.

Дополнительно из литературы были взяты праймеры для амплификации последовательностей SSR-локусов *Xgwm213* и *cfb382* (динуклеотидные повторы), сцепленных с генами *Kr1* и *SKr*, соответственно (табл. 1). Кроме того, в анализ были привлечены праймеры для других маркеров, ассоциированных с геном *SKr*: SSR-локуса *cfb341* (F: TAAAGCGGATGGGTCTTGTT, R: ATAAGATTACCTCGGGTGAA), участков геномной ДНК *gene12* (F: CCGTCCAGAAATTAACTGTCG, R: TGAAATTCAGTTGCCACTTC) и (Insertion Site-Based Polymorphism) и *TGlc2* (F: TGATTGCTCCACAAAACTGC, R: GCTGCATCTCTTCCAGTTCC) (Bouguennec et al., 2018), аллели которых мы использовали для определения их связи с высокой/низкой скрещиваемостью МП с рожью.

Физические карты участков короткого и длинного плеч хромосом 5BS и 5BL конструировали в программе

[1] Приложения доступны в онлайн версии статьи/ The supplements are available in the online version of the paper: DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o8

MapChart 2.32 (Voorrips, 2002). Карты строили на основе расположения последовательностей маркерных локусов генов *Kr1* и *SKr* в полногеномной сборке сорта CS (IWGSC CS, 2021).

**Таблица 1. Праймеры для амплификации SSR-локусов, использованных для генотипирования выборки из 78 линий пшеницы**

**Table 1. Primers for amplification of SSR loci used for genotyping a set of 78 wheat lines**

| № | SSR-локус специфичная ДНК[1]/ SSR locus specific DNA[1] | Мотив[2]/ Motif[2] | Последовательность праймера (5'→3')[3]/ Primer sequence (5'→3')[3] | Ожидаемый размер ПЦР-продукта (пн)/ Expected size of PCR product (bp)[2] | Tm, °C | Локализация в хромосоме 5B/ Location on the chromosome 5B |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Хромосома 5BS/ Chromosome 5BS** | | | | | | |
| 1 | ***Xvir1*** | $(AAT)_8$ | F: TTTGTTTGCATCAGTTGGTGGT<br>R: CTCCGCTGTAACTCTGGGTTT | 200 | 60 | 1403124-1403323 |
| 2 | *Xvir2* | $(GGA)_8$ | F: TCCAGATTGAGCAGGAGGTC<br>R: TGCTAGAGGAAGCGTCAGTT | 286 | 60 | 2548903-2549188 |
| 3 | ***Xvir3*** | $(CATA)_{11}$ | F: TGTAACACACAACGTTTCCA<br>R: TAGCTAGATAGCTGACCATGA | 263 | 56 | 2608942-2609204 |
| 4 | *Xvir4* | $(GAG)_{10}$ | F: TGCAACCGCAGCATGGAAACC<br>R: CTGTAGCCGCGCGATGGGAAT | 241 | 63 | 2884273-2884513 |
| 5 | *Xvir5* | $(CTT)_9$ | F: ACATGCAATGAACGAGCATCT<br>R: GGTGAGCAGAAAGCGAAACA | 202 | 60 | 3603629-3603830 |
| 6 | ***Xcfb382*** | $(CT)_{15}$ $(GT)_{12}$ | F: CTGCAGTCTCATCCGCTGCTT<br>R: ATGGCTTGATACTGGCAACC | 196 | 55 | 5045716-5045911 |
| 7 | *Xvir6* | $(GTT)_7$ | F: CAGCTCCCTTCCAATCTTGC<br>R: GCCTTGATGTAGTTGCTCGTT | 177 | 60 | 5838016-5838192 |
| **Хромосома 5BL/ Chromosome 5BL** | | | | | | |
| 8 | *Xvir7* | $(TCT)_7$ | F: ACCAATGCACCACCAAGAAA<br>R: TTTGCTCTTTGTCAACGGCG | 124 | 59 | 412458475-412458598 |
| 9 | *Xvir8* | $(CAA)_7$ | F: CATCAGCATTGGTCGTCCTC<br>R: GAACGCTTGCAAGAGGGATT | 236 | 60 | 413068061-413068296 |
| 10 | ***Xvir9*** | $(ATGT)_7$ | F: AGGCCCAACACGAGTCTAAA<br>R: TGTGATCACTCGGTAGCTGA | 203 | 59 | 414820519-414820721 |
| 11 | ***Xvir10*** | $(GGT)_7$ | F: CGATCAACCCTTGAATCTTGA<br>R: CTTCCACACCACGAACGA | 299 | 58 | 417438317-417438615 |
| 14 | *Xvir11* | $(CCT)_7$ | F: TCATCAGGCCAGTAGGCAAA<br>R: GAGAGCAATATCAACGACCCA | 116 | 56 | 418114490-418114605 |
| 12 | ***Xgwm213*** | $(GA)_{35}$ | F: TGCCTGGCTCGTTCTATCTC<br>R: CTAGCTTAGCACTGTCGCCC | 184 | 65 | 418808253-418808436 |
| 13 | ***Xvir12*** | $(AAT)_{21}$ | F: ACTTTGACCAAGTTCGGAGG<br>R: GCTTTGTTGCGATGTTGATGT | 287 | 60 | 419649442-419649728 |
| 15 | *Xvir13* | $(AGA)_{11}$ | F: CATCGGATCGCTGGAGTAGAT<br>R: AACTCGTACTCAATGTACCGC | 186 | 59 | 419931581-419931766 |
| 16 | ***Xvir14*** | $(TAA)_{17}$ | F: GATCTCGTAGACGTGAATTT<br>R: TTACTCTCAAGATCAGAGGC | 248 | 57 | 421988445-421988692 |

Примечания: 1 – полужирным начертанием текста выделены SSR-локусы, в которых выявлен полиморфизм ДНК в результате апробации; 2 – число повторов мотива, а также размер ПЦР-продукта дан для сорта 'Chinese Spring' МП; 3 – каждый прямой праймер удлинен с 5'-конца на последовательность, прямого праймера M13 (CACGACGTTGTAAAACGAC).
Notes: 1 – SSR loci highlighted in bold are those that demonstrated DNA polymorphism as the result of testing; 2 – the number of motif repeats, as well as the size of the PCR product, is given for the BW cv. 'Chinese Spring'; 3 – each forward primer is extended from the 5'-end by the sequence of the forward primer M13 (CACGACGTTGTAAAACGAC).

**Выделение ДНК.** Экстракцию геномной ДНК осуществляли из листьев индивидуальных растений, фенотипированных по признаку «скрещиваемость с рожью». Материал отбирали на стадии выхода растения в трубку, что увеличивало шанс для проведения его дальнейшего фенотипирования. Каждая из 78 линий была представлена одним препаратом ДНК, выделенным из индивидуального растения. Для выделения ДНК использовали метод SDS (Sodium Dodecyl Sulfate)-экстракции (Dorokhov, Klocke, 1997). Качество и концентрацию полученных ДНК-препаратов определяли при помощи нанофотометра Implen N60 (Implen GmbH, Германия), а также электрофорезом в 0,8% агарозном геле.

**Молекулярный скрининг.** Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) осуществляли с привлечением 14 пар праймеров, разработанных в настоящем исследовании, и пяти пар праймеров, отобранных в литературе (см. табл. 1) (Röder et al., 1998; Alfares et al., 2009; Bertin et al., 2009; Bouguennec et al., 2018).

Реакционная смесь объемом 14 мкл содержала: 10 нг геномной ДНК, 1 × реакционный буфер, 2,5 мМ $MgCl_2$, по 0,3 мМ каждого из dNTP's, 0,04 мкМ прямого праймера и 0,16 мкМ обратного праймера и 0,75 ед. Taq-полимеразы. Дополнительно смесь включала прямой праймер M13 (cacgacgttgtaaaacgac) в концентрации 0,16 мкМ, маркированный одним из флуоресцентных красителей: IRD700 и IRD800 (LI-COR, Inc., США), а также FAM, ROX, R6G, TAMRA (Синтол, Россия). При этом прямой праймер на 5'-конце тоже имел последовательность M13, в результате чего в последующих циклах образовывались флуоресцентно меченные ПЦР-продукты. Пониженная концентрация прямого праймера обеспечивала лучший отжиг праймера M13 (Barkley et al., 2007).

ПЦР с использованием разработанных нами праймеров проводили по следующей схеме: 94ºС – 3 мин 30 сек; 10 циклов [94ºС – 45 сек, TmºС – 1 мин 30 сек; 72ºС – 1 мин]; 25 циклов [94ºС – 45 сек, 55ºС – 45 сек; 72ºС – 1 мин] и в заключение 72ºС – 10 мин. Понижение температуры отжига до 55ºС способствовало лучшему отжигу флуоресцентно меченного праймера M13 и увеличивало выход маркированных ПЦР-продуктов. Для остальных праймеров программы соответствовали рекомендуемым авторами (Röder et al., 1998; Alfares et al., 2009).

Электрофоретическое разделение ПЦР-продуктов осуществляли в денатурирующем полиакриламидном геле (ПААГ) с применением двух различных систем:

– электрофорез в проточном 8% полиакриламидном геле на установке LI-COR 4300S (LI-COR, Inc., США) с лазерной детекцией фрагментов, меченных IRD700 или IRD800. В качестве стандартов молекулярного веса использовали маркеры 50-700 bp (LI-COR, Inc., США);

– капиллярный электрофорез на установке Нанофор 05 (Синтол, Россия) с лазерной детекцией фрагментов (Alekseev et al., 2012), меченных FAM, ROX, R6G или TAMRA. В качестве стандарта длин применяли маркер СД-450 (Синтол, Россия).

Такой подход позволял наглядно сопоставить результаты классического гель-электрофореза и капиллярного электрофореза.

**Статистическая обработка данных.** Для оценки полиморфизма в SSR-локусе использовали величину (меру), информационного полиморфизма – *PIC* (polymorphic information content), которая показывает их дискриминационную способность. Вычисляли значение по формуле $PIC=1-\Sigma(p_i^2)$, где $p_i$ – частота *i* аллеля, выявленного в данной выборке (Nei, 1973). Кроме того, рассчитывали число эффективных аллелей – *Ne*, эквивалентное числу аллелей, характеризующих реальную генетическую вариабельность в SSR-локусе. Расчёты проводили в программе GenAlEx v. 6.503 (Peakall, Smouse, 2012).

Диагностическую эффективность аллелей SSR-локусов в идентификации генотипов с высокой или низкой скрещиваемостью (*Ef*) определяли как соотношение (в %) числа генотипов с правильной ассоциацией аллель-признак к общему числу генотипов (Totsky et al., 2021). Достоверность ассоциации оценивали при помощи критерия $\chi^2$ с поправкой Йейтса, позволяющего снизить вероятность ложноположительных результатов при небольших объемах выборок (ожидаемые частоты <10%). Корреляцию аллелей SSR-локусов с уровнем скрещиваемости с рожью (*r*) рассчитывали с помощью коэффициента корреляции Спирмена, рассчитанного с помощью программы Statistica v.12 (StatSoft, Inc., США).

При расчете диагностической эффективности аллелей SSR-локусов, критерия $\chi^2$ и коэффициента корреляции Спирмена скрещиваемость линий представляли в бинарном виде, где 0 – низкая скрещиваемость, 1 – высокая.

Кластерный анализ проводили с применением программы DARwin v.6.0.21 (CIRAD, Франция) для базы с результатами генотипирования, представленной в виде бинарной матрицы. Дендрограмму строили по J.H. Ward (Ward, 1963). Расстояния рассчитывали по L. Dice (Dice, 1945) с использованием бутстрэп-поддержки (10000 итераций).

## Результаты и обсуждение

**Определение участков с локализацией генов *SKr* и *Kr1* в полногеномной сборке CS (**IWGSC CS, 2021**).** Для всех маркеров, фланкирующих гены *SKr* и *Kr1*, выполнен поиск сайтов отжига праймеров в геноме CS с помощью функции "ПЦР *in silico*" в программе Unipro UGENE v.50.0.

Для гена *SKr* в геномной сборке CS проведен поиск последовательностей ампликонов, генерируемых праймерами gene13 и gene12. Маркер gene13 картирован проксимальнее гена *SKr*, а gene12 косегрегирует с ним (Bouguennec et al., 2018) и потенциально может фланкировать *SKr* дистально. В результате, в качестве участка с геном *SKr* мы выбрали последовательность в 5,5 млн пн на коротком плече хромосомы 5B (рис. 1).

В случае гена *Kr1* последовательности обоих фланки-

рующих его EST-SSR локусов *Xw5145* и *DR740708* были найдены в длинном плече 5BL. Расстояние между ними составило 5,7 млн пн. Поскольку для *Kr1* не известны диагностические ДНК-маркеры, было решено несколько расширить этот участок. Для этого вместо *DR740708* был взят EST-SSR локус *Xw9340*, который находится дистальнее на 13 млн пн. Другими словами, для гена *Kr1* на физической карте хромосомы 5B определили участок в 18,9 млн пн между EST-SSR локусами *Xw5145* и *Xw9340* (см. рис. 1).

Таким образом, в геномной сборке сорта CS МП нами были установлены физические участки локализации генов *SKr* и *Kr1,* которые далее использовали для выявления микросателлитных повторов.

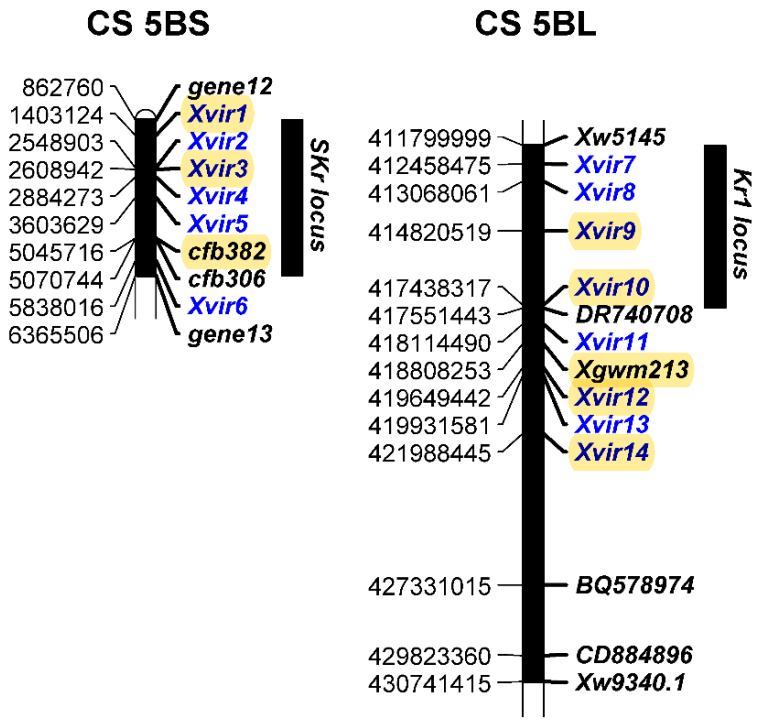



**Рис. 1. Физические карты участков хромосомы 5B с локализацией генов *SKr* (5BS) и *Kr1* (5BL)**

Синим шрифтом обозначены SSR-локусы, выявленные *in silico* и успешно апробированные на тестовой выборке из 16 образцов МП. Бежевой заливкой выделены полиморфные SSR-локусы, участвовавшие в генотипировании. Слева указаны позиции SSR-локусов в геномной сборке хромосомы 5B. При построении карты использовали программу MapChart v. 2.32 (Voorrips, 2002).

**Fig. 1. Physical maps of chromosome 5B regions containing the *SKr* (5BS) and *Kr1* (5BL) genes**

Blue font denotes SSR loci identified *in silico* and successfully tested on a set of 16 BW accessions. Polymorphic SSR loci used in genotyping are highlighted in beige. The positions of the SSR loci in the genome assembly of chromosome 5B are shown on the left. MapChart v. 2.32 (Voorrips, 2002) was used to create the map.

**Поиск SSR-локусов, разработка и апробация специфичных праймеров.** На участке, на котором локализован ген *SKr*, размером 5,5 млн пн было обнаружено 19 различных микросателлитов с мотивами размером в 3-6 пн. В среднем один SSR приходился на каждые 290 тпн. Для амплификации последовательностей шести SSR-локусов – *Xvir1*, *Xvir2*, *Xvir3*, *Xvir4*, *Xvir5* и *Xvir6* – были успешно разработаны специфичные праймеры (см. табл. 1). Для остальных 13-ти SSR-локусов подобрать такие праймеры не удалось, поскольку в других участках генома мягкой пшеницы, а именно в хромосомах 5A и 5D, были выявлены сходные последовательности.

Для второго участка на длинном плече хромосомы 5B размером в 18,9 млн пн, на котором локализован ген *Kr1*, было идентифицировано 83 SSR-последовательности, в среднем одна на каждые 228 тпн, то есть их встречаемость оказалась несколько выше, чем в коротком плече 5B. Специфичные праймеры были сконструированы для амплификации только восьми SSR-локусов (см. табл. 1), для остальных микросателлитов такие праймеры подобрать не удалось, что было связано с теми же причинами, что и в случае с геном *SKr*.

Апробацию 16 пар праймеров (см. табл. 1) проводили с целью проверки специфичности их отжига, а также для выявления полиморфных SSR-локусов, пригодных для генотипирования. Для этого нами была использова-

на тестовая выборка из 16 образцов МП различного географического происхождения, среди которых с большей вероятностью можно было обнаружить полиморфизм фрагментов ДНК в изучаемых SSR-локусах. В результате, на участке, в котором локализован ген *SKr* (хромосома 5BS), при апробации шести разработанных пар праймеров было выявлено только два полиморфных SSR-локуса: *Xvir1* и *Xvir3,* имеющих четыре и два аллеля соответственно. Остальные четыре SSR-локуса оказались мономорфными. Также полиморфным был взятый из литературы SSR-локус *cfb382* (Alfares et al., 2009), представленный четырьмя аллелями.

Для участка, в котором локализован ген *Kr1* (хромосома 5BL), с использованием той же выборки образцов апробированы разработанные нами праймеры для восьми SSR-локусов (см. табл. 1), а также праймеры ещё для одного дополнительного взятого из литературы SSR-локуса *Xgwm213* (Röder et al., 1998). Четыре SSR-локуса оказались полиморфными: у *Xvir14* выявлено десять аллелей, восемь – у *Xvir12*, три – у *Xvir9* и два – у *Xvir10*. Также полиморфным был SSR-локус *Xgwm213*.

Таким образом, в результате апробации мы отобрали два полиморфных SSR-локуса *Xvir1* и *Xvir3* для гена *SKr* и четыре *Xvir9, Xvir10, Xvir12, Xvir14* для гена *Kr1,* праймеры для амплификации которых давали специфичные, хорошо различимые в ПААГ ПЦР-продукты. Отобранные микросателлиты соответствовали классу I: они имели размер повторяющегося мотива от 3 до 6 пн, число повторов мотива – от семи и более, то есть общее число пар нуклеотидов превышало 20.

Для будущих работ по позиционному клонированию генов *SKr* и *Kr1*, а также для поиска генов-кандидатов, были построены физические карты участков, на которые нанесено расположение этих генов и всех успешно амплифицированных последовательностей SSR-локусов, в том числе мономорфных (см. рис. 1). Кроме того, в эти карты была интегрирована часть близко расположенных к генам *SKr* и *Kr1* локусов, известных из литературных источников (Alfares et al., 2009; Bertin et al., 2009; Bouguennec et al., 2018).

Таким образом, на участке с геном *SKr* генетическое расстояние между фланкирующими его маркерами gene12 и gene13 составило 0,4 cM (Bouguennec et al., 2018), на физической карте оно оказалось эквивалентно 5,5 млн пн, и на данном участке нами обнаружено два полиморфных SSR-локуса *Xvir1* и *Xvir3*.

Для участка с геном *Kr1* генетическое и физическое расстояния между фланкирующими его EST-SSR локусами *Xw5145* и *Xw9340* составило 2 cM и 18,9 млн пн соответственно. Порядок расположения других известных маркеров на физической карте соответствовал опубликованным данным (Bertin et al., 2009). Вероятнее всего, ген *Kr1* расположен между EST-SSR локусами *Xw5145* и *DR740708*, которые косегрегируют с ним. В данном участке нами выявлено два полиморфных SSR-локуса, *Xvir9* и *Xvir10,* которые наиболее близко расположены к гену *Kr1* (см. рис. 1).

**Характеристика SSR-локусов.** Чтобы определить, подходят ли выявленные SSR-локусы для генотипирования пшеницы, мы использовали выборку из 78 линий гексаплоидной пшеницы – 69 линий МП и 9 линий СГП различного географического происхождения, где каждая линия является потомством одного самоопыляющегося растения. По результатам апробации для генотипирования отобраны три SSR-локуса для участка хромосомы 5BS, в котором локализован ген *SKr*, и пять для участка 5BL хромосомы, в котором локализован ген *Kr1* (табл. 2).

Число аллелей для выявленных нами SSR-локусов было от двух (*Xvir10*) до 11 (*Xvir14*), среднее число аллелей на SSR-локус – 5,67. Значения индекса информационного полиморфизма *PIC* варьировали от 0,23 до 0,86, а число эффективных аллелей от 1,7 до 7,1 (см. табл. 2). Наиболее полиморфными были SSR-локусы *Xvir1* (*PIC*=0,60; *Ne*=2,5), расположенные на плече хромосомы 5BS и *Xvir12* (*PIC*=0,84; *Ne*=6,3), *Xvir14* (*PIC*=0,86; *Ne*=7,1) – на 5BL.

Следует отметить, что выявленные нами SSR-локусы *Xvir12* $(AAT)_{21}$ и *Xvir14* $(TAA)_{17}$ оказались сопоставимы по индексу *PIC* с известными SSR-локусами *cfb382* $(CT)_{15}(GT)_{12}$ и *Xgwm213* $(GA)_{35}$, для которых в нашей выборке мы также выявили высокий полиморфизм.

Выявленные и успешно амплифицированные в настоящем исследовании SSR-локусы с три- и тетрануклеотидными мотивами имели преимущество в методическом плане. На рисунке 2 (рис. 2а; 2б) приведены электрофореграммы ПЦР-продуктов, полученных с использованием праймеров, специфичных для последовательностей SSR-локусов *cfb382* и *Xgwm213*. Для сравнения, на рисунке 2 (рис. 2в; 2г) указаны SSR-локусы с более протяженными повторяющимися мотивами *Xvir1* $(AAT)_8$ и *Xvir9* $(ATGT)_7$. Как видно, продукты амплификации, сгенерированные праймерами, специфичными для таких SSR-локусов, практически не образуют статтеров. На электрофореграммах нет характерной для SSR-локусов с динуклеотидными повторами «лестницы» из ПЦР-фрагментов, отличающихся от целевого продукта на один тандемный повтор. В ряде случаев такие статтеры могут быть практически неотличимыми от целевого ПЦР-продукта, что затрудняет интерпретацию полученных данных. Таким образом, преимущество использования в анализе SSR-локусов с повторяющимися мотивами в 3-6 пн заключается в упрощении интерпретации результатов.

**Диагностическая эффективность аллелей SSR-локусов в идентификации генотипов мягкой пшеницы с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью.** Выявленные нами SSR-локусы расположены в участках локализации генов *SKr* и *Kr1*, участвующих в контроле признака скрещиваемости МП с рожью. Поскольку эти SSR-локусы находятся близко к названным генам, то их аллели могут быть ассоциированы с признаком высокой/

**Таблица 2. Характеристика SSR-локусов хромосомы 5B по результатам изучения 78 линий гексаплоидной пшеницы**

**Table 2. Characterization of SSR loci on chromosome 5B based on the analysis of 78 hexaploid wheat lines**

| № | SSR-локус специфичная ДНК/ SSR loci specific DNA | Мотив/ Motif[1] | Размер ПЦР-продукта / PCR product size[1] | Диапазон размера выявленных фрагментов (пн)/ Size range of detected fragments (bp) | Выявлено аллелей/ Alleles identified | | | *Ne*[2] | *PIC*[3] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Всего, в том числе/ Total, including | редких (до 10%)/ rare (up to 10%) | уникальных/ unique | | |
| **5BS/ 5BS** | | | | | | | | | |
| 1 | *Xvir1* | $(AAT)_8$ | 200 | 0[4], 200-212 | 5 | 1 | 0 | 2,5 | 0,60 |
| 2 | *Xvir3* | $(CATA)_{11}$ | 263 | 223-267 | 4 | 2 | 0 | 1,3 | 0,23 |
| 3 | *cfb382* | $(CT)_{15}(GT)_{12}$ | 196 | 0[4], 194-234 | 11 | 6 | 2 | 4,4 | 0,77 |
| **5BL/ 5BL** | | | | | | | | | |
| 4 | *Xvir9* | $(ATGT)_7$ | 203 | 187-203 | 4 | 0 | 0 | 2,3 | 0,56 |
| 5 | *Xvir10* | $(GGT)_7$ | 299 | 299-305 | 2 | 0 | 0 | 1,7 | 0,39 |
| 6 | *Xgwm213* | $(GA)_{35}$ | 184 | 148-232 | 29 | 12 | 9 | 22,2 | 0,96 |
| 7 | *Xvir12* | $(AAT)_{21}$ | 287 | 278-299 | 8 | 1 | 0 | 6,3 | 0,84 |
| 8 | *Xvir14* | $(TAA)_{17}$ | 248 | 218-257 | 11 | 4 | 0 | 7,1 | 0,86 |

Примечания: 1 – число повторов мотива, а также размер ПЦР-продукта дан для сорта ‘Chinese Spring’ МП; 2 – *Ne* – число эффективных аллелей; 3 – *PIC* – polymorphic index content; 4 – для SSR-локусов *Xvir1* и *cfb382* был выявлен нулевой аллель, т.е. отсутствие ПЦР-продуктов (у двух генотипов).

Notes: 1 – the number of motif repeats, as well as the size of the PCR product are given for the BW cv. ‘Chinese Spring’; 2 – *Ne* – number of effective alleles; 3 – *PIC* – polymorphic index content; 4 – the null allele i.e., the absence of PCR products, was detected for SSR loci *Xvir1* and *cfb382* (in two genotypes).

низкой скрещиваемости. Для подтверждения этого факта из 78 линий гексаплоидной пшеницы были отобраны 69 линий, контрастных по скрещиваемости с рожью (см. Приложение/ see the Supplement). Линии СГП были исключены из анализа, поскольку их недостаточная представленность в выборке (всего 9) не позволила бы достоверно оценить ассоциацию аллелей локусов с проявлением признака.

Для каждого SSR-локуса в качестве маркерных рассматривали те аллели, которые нам удалось соотнести с высокой и с низкой скрещиваемостью с рожью. При этом число линий МП с каждым из таких аллелей должно было быть не менее пяти, чтобы можно было провести статистическую обработку данных. Этим условиям отвечали SSR-локусы *Xvir1*, *Xvir9* и *Xvir10*, у них аллели *Xvir1_206*, *Xvir9_199, Xvir10_300* преобладали у генотипов с «низкой скрещиваемостью», а аллели *Xvir1_200, Xvir1_212*, *Xvir9_203, Xvir10_299* – у генотипов с «высокой скрещиваемостью» (табл. 3). Дополнительно, в анализ были включены маркеры cfb341, gene12, TGlc2, сцепленные с геном *SKr*, которые ранее использовали для определения генотипов МП с высокой (аллели *cfb341_176, gene12_391* и *TGlc2_291*) или низкой (*cfb341_163, gene12_342* и *TGlc2_279*) скрещиваемостью с рожью (Bouguennec et al., 2018; Porotnikov et al., 2022; 2025). SSR-локусы: *Xvir3, Xvir12, Xvir14, cfb382, Xgwm213*, были представлены слишком большим числом аллелей, чтобы установить статистически значимую ассоциацию их с признаком для выборки из 69 линий МП (см. табл. 2). В итоге, диагностическая эффективность была рассчитана для аллелей четырех локусов (*Xvir1*, *cfb341*, *gene12* и *TGlc2*), сопряженных с геном *SKr*, и двух SSR-локусов (*Xvir9* и *Xvir10*) – с геном *Kr1.* Для них также определена достоверность ассоциации аллель-признак (критерий $\chi^2$) и вычислена корреляция между встречаемостью аллелей и уровнем скрещиваемости с рожью.

Высокая диагностическая эффективность и статистически значимая ассоциация аллель-признак были характерны для аллелей SSR-локуса *Xvir1* (*Ef*=82,3%; $\chi^2$=17,91), ассоциированного с геном *SKr*. Эти значения оказались сопоставимы с рассчитанными для других маркеров: cfb341, gene12 и TGlc2, тесно сцепленных с данным геном (см. табл. 3).

Впервые для гена *Kr1* мы оценили диагностическую эффективность аллелей SSR-локусов *Xvir9* и *Xvir10,* ассоциированных с признаком скрещиваемости с рожью. Данные SSR-локусы характеризовались небольшим числом аллелей и были широко представлены в выборке. Присутствие маркерных аллелей, указывающих на «низкую» (*Xvir10_305*) и «высокую» (*Xvir9_203*, *Xvir10_299*)

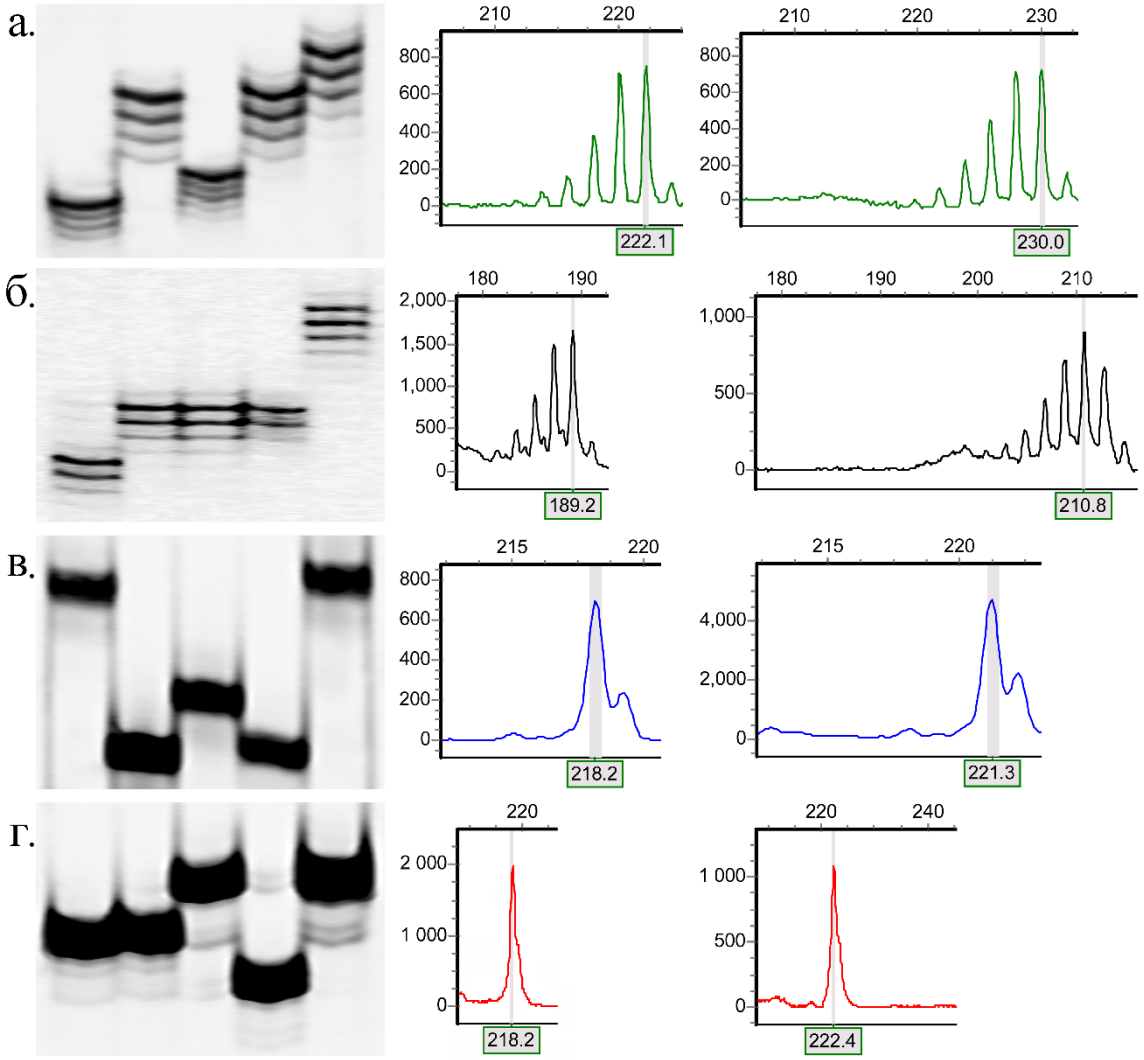



**Рис. 2. Сопоставление результатов разделения ПЦР-продуктов для SSR-локусов с разной длиной повторяющегося мотива**

Слева приведены электрофореграммы, полученные при электрофорезе в ПААГ с использованием LI-COR 4300S, по центру и справа – с привлечением Нанофор 05. а. – SSR-локус *cfb382* $(CT)_{15}(GT)_{12}$; б. – *Xgwm213* $(GA)_{35}$; в. – *Xvir1* $(AAT)_8$; г. – *Xvir9*$(ATGT)_7$. Размеры ПЦР-продуктов даны с учетом длины последовательности праймера M13 (19 пн)

**Fig. 2. Comparison of PCR product separation for SSR loci with different lengths of the repeat motif**

The left panel shows PAGE electropherograms generated on a LI-COR 4300S, the central and right panels – on Nanophore 05. a. – SSR loci *cfb382* $(CT)_{15}(GT)_{12}$; б. – *Xgwm213* $(GA)_{35}$; в. – *Xvir1* $(AAT)_8$; г. – *Xvir9* $(ATGT)_7$. The sizes of PCR products are given taking into account the length of the M13 primer sequence (19 bp)

скрещиваемость с рожью достоверно коррелировало с проявлением самого признака, однако, корреляция была ближе к умеренной (см. табл. 3). В пользу невысоких значений коэффициента корреляции свидетельствовала также и более низкая (в сравнении с *SKr*), диагностическая эффективность аллелей SSR-локусов *Xvir9* (*Ef*=66,7%; $\chi^2$=10,2) и *Xvir10* (*Ef*=72,5%; $\chi^2$=7,7). Важно отметить, что генотипы с аллелем *Xvir9_199* были как с высокой, так и с низкой скрещиваемостью, примерно в равном соотношении (см. табл. 3). Поэтому для локуса *Xvir9* нами выявлен только аллель *Xvir9_203*, ассоциированный с высокой скрещиваемостью с рожью. Вместе с тем, *Xvir9* и *Xvir10* – это впервые идентифицированные SSR-локусы, сцепленные с геном *Kr1*, аллели которых имеют статистически значимую взаимосвязь с признаком. Немаловажным является тот факт, что *Xvir9* и *Xvir10* располагаются между EST-SSR-локусами *Xw5145* и *DR740708*, которые косегрегируют с геном *Kr1* (Bertin et al., 2009) и, по-видимому, находятся близко от него.

**Таблица 3. Диагностическая эффективность аллелей локусов, ассоциированных с генами *SKr* и *Kr1*, в выявлении генотипов МП с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью**

**Table 3. Diagnostic efficiency of loci alleles associated with *SKr* and *Kr1* genes in identifying BW genotypes with high/low crossability with rye**

| Маркерный фрагмент (пн)[1]/ Marker fragment (bp)[1] | *r* (*p*<0,05)[2] | Число (процент) генотипов с маркерным фрагментом скрещиваемости/ Number (percentage) of genotypes with a crossability marker fragment | | *Ef*3 | $\chi^2$ (3,84; *df*=1, *p*=0,05)[4] |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Высокой/ High | Низкой/ Low | | |
| **Локусы, ассоциированные с геном *SKr* / Loci associated with the *SKr* gene** | | | | | |
| **SSR-локус *cfb341*** (Alfares et al., 2009) / **SSR loci *cfb341*** (Alfares et al., 2009) | | | | | |
| **163** | *r*= –0,430 | 2 (18,18%) | 9 (81,82%) | 83,60% | 15,5 |
| **176** | *r*=0,526 | 37 (84,09%) | 7 (15,91%) | | |
| **Геномный локус *gene12*** (Bouguennec et al., 2018) / **genomic loci *gene12*** (Bouguennec et al., 2018) | | | | | |
| **342** | *r*= –0,548 | 1 (8,33%) | 11 (91,67 | 83,60% | 15,5 |
| **391** | *r*= –0,463 | 41 (77,36%) | 12 (22,64%) | | |
| **Геномный локус *TGlc2*** (Bouguennec et al., 2018) / **genomic loci *TGlc2*** (Bouguennec et al., 2018) | | | | | |
| **279** | *r*= –0,430 | 2 (18,18%) | 9 (81,82%) | 80,00% | 17,5 |
| **291** | *r*=0,464 | 37 (84,09%) | 7 (15,91%) | | |
| **SSR-локус *Xvir1* / SSR-loci *Xvir1*** | | | | | |
| **206** | *r*= –0,513 | 1 (9,09%) | 10 (90,91%) | 82,30% | 17,9 |
| **200** | *r*=0,536[5] | 30 (75,00%) | 10 (25,00%) | | |
| **212** | | 11 (11,00%) | 0 | | |
| **SSR-локусы, ассоциированные с геном *Kr1* / SSR loci associated with the *Kr1* gene** | | | | | |
| ***Xvir9*** | | | | | |
| **199** | *r*= –0,395 | 19 (48,72%) | 20 (51,28%) | 66,70% | 10,2 |
| ***203*** | *r=0,406* | 22 (91,67%) | 2 (8,33%) | | |
| ***Xvir10*** | | | | | |
| **305** | *r*= –0,367 | 7 (36,84%) | 12 (63,16%) | 72,50% | 7,7 |
| **299** | *r*=0,367 | 38 (76,00%) | 12 (24,00%) | | |

Примечания: 1 – зеленым и красным шрифтом обозначены маркерные фрагменты «высокой» или «низкой скрещиваемости с рожью» соответственно; 2 – коэффициент корреляции Спирмена; 3 – диагностическая эффективность; 4 – критерий хи-квадрат с поправкой Йейтса; 5 – для аллелей *Xvir1_200* и *Xvir1_212* приведена корреляция, рассчитанная при их совместном учете, поскольку они оба относятся к одному SSR-локусу и ассоциированы с высокой скрещиваемостью с рожью

Notes: 1 – green and red fonts indicate marker fragments with «high» or «low crossability with rye», respectively; 2 – Spearman's correlation coefficient; 3 – diagnostic efficiency; 4 – Yates-corrected Chi-square test; 5 – The correlation presented for the *Xvir1_200* and *Xvir1_212 alleles* was calculated taking them both into account, since they both belong to the same SSR locus and are associated with high crossbreeding with rye.

Таким образом, нами показано, что по составу аллелей каждого из изученных SSR-локусов, расположенных на участках локализации генов SKr и Krl, нельзя определить все генотипы с высокой или с низкой скрещиваемостью с рожью (см. табл. 3). Представляло интерес уточнить характер дифференциации генотипов МП по участкам, в которых расположены гены *SKr* и *Krl*. Для этого нами был проведен кластерный анализ для определения сходства линий МП по составу аллелей, которые были достоверно ассоциированы с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью (см. табл. 3). В анализ были вовлечены 44 из 69 линий МП. Было выделено два основных кластера (рис. 3).

Кластер 1 с субкластерами 1.1 и 1.2 объединил 36 линий, преимущественно из Восточной Азии. В субкластер 1.1 вошла 21 линия из Китая и Японии, все они были с высокой скрещиваемостью с рожью (см. рис. 3). По аллельному составу SSR-локусов эти линии можно объединить в группы со следующими комбинациями аллелей:

– группа 1 (*cfb341_176+gene12_391+TGlc2_291+Xvir1_200+Xvir9_203+Xvir10_299).* В нее вошли 12 линий и сорт CS;

– группа 2 (*cfb341_176+gene12_391+TGlc2_291+Xvir1_212+Xvir9_203+Xvir10_299),* объединившая семь линий;

– группа 3 (*cfb341_163+gene12_391+TGlc2_279+Xvir1_212+Xvir9_203+Xvir10_299)* включала линию Л22-ХСР.

Все линии субкластера 1.1 из групп 1 и 2 имели аллели «высокой скрещиваемости с рожью» (см. табл. 3, см. рис. 3).

Субкластер 1.2 объединил 15 линий МП, как с низкой (пять линий), так и с высокой (десять линий) скрещиваемостью с рожью. Данные линии содержали маркерные аллели «высокой скрещиваемости» во всех SSR-локусах, сопряженных с геном *SKr*, но в SSR-локусе *Xvir10,* связанном с геном *Krl*, у них в ряде случаев присутствовал аллель *Xvir10_305*, сопряженный, с «низкой скрещивае-

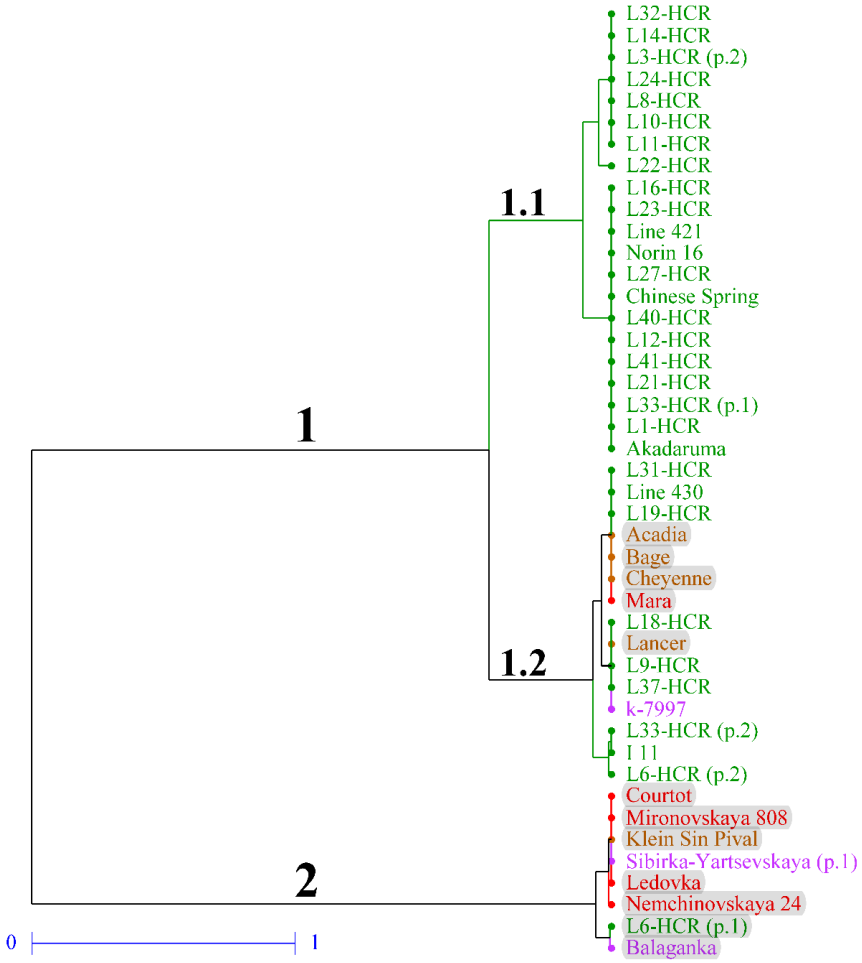



**Рис. 3. Распределение 44 линий мягкой пшеницы на дендрограмме, построенной на основе анализа маркерных фрагментов шести локусов, ассоциированных с генами *SKr* и *Kr1***

1 и 2 – кластеры, 1.1 и 1.2 – субкластеры. Линии пшеницы в зависимости от их географического происхождения представлены различным цветом: красный – Европа, зеленый – Восточная Азия (Китай и Япония), розовым – Монголия и Южная Сибирь (Россия: Красноярский край и Иркутская область), коричневый – страны Нового Света. Серой заливкой отмечены линии с низкой скрещиваемостью с рожью

**Fig. 3. Distribution of 44 BW lines on a dendrogram constructed based on the analysis of marker fragments of six loci associated with the *SKr* and *Kr1* genes**

1 and 2 – clusters, 1.1 and 1.2 – subclusters. Wheat lines are color-coded based on their geographic origin: red – Europe, green – East Asia (China and Japan), pink – Mongolia and Southern Siberia (Russia: Krasnoyarsk Territory and Irkutsk Region), brown – New World countries. Lines with low crossability with rye are shaded gray

мостью с рожью». С высокой скрещиваемостью с рожью большинство (9 из 11) линий были из Китая, остальные две – из Монголии и Бразилии. С низкой завязываемостью – из Стран Нового света и Европы.

Кластер 2 представляли восемь линий. Все они, кроме ‘Сибирка Ярцевская’, имели низкую скрещиваемость с рожью (см. рис. 3). По географическому происхождению четыре линии были из Европы, две из Южной Сибири и по одной из Аргентины и Китая.

Таким образом, совместное использование данных об аллельных вариантах SSR-локусов, находящихся на участках расположения генов *SKr* и *Kr1,* позволило выделить генотипы МП с высокой скрещиваемостью с рожью, которые имели комбинации маркерных аллелей, не встречающиеся у генотипов с низкой скрещиваемостью. Линии с низкой завязываемостью гибридных зерновок кластеризовались, как правило, отдельно от совместимых с рожью генотипов. Кроме того, аллели SSR-локусов, сопряженные с генами *SKr* и *Kr1* дифференцировали линии не только по признаку скрещиваемости с рожью, но и по их географическому происхождению, обособив линии из Европы, Южной Сибири и Монголии, а также стран Нового Света от большей части линий из Восточной Азии.

## Заключение

Методом идентификации *in silico* в геноме мягкой пшеницы сорта ‘Chinese Spring’ выявлены микросателлитные локусы в целевых участках, в которых картированы гены *SKr* и *Kr1*. Для амплификации последовательностей 14 SSR-локусов с повторяющимися мотивами в 3-4 пн разработаны специфичные праймеры. В результате тестирования праймеров шесть SSR-локусов оказались полиморфными: два ассоциированы с геном *SKr (Xvir1, Xvir3)* и четыре – с *Kr1* (*Xvir9*, *Xvir10*, *Xvir12*, *Xvir14*). Проверка апробированных праймеров SSR-локусов в выборке из 78 линий пшеницы, различного географического происхождения и уровня скрещиваемости с рожью, показала, что из них наиболее полиморфными были аллели SSR-локусов *Xvir1* (*PIC*=0,60; *Ne*=2,5), *Xvir12* (*PIC*=0,84; *Ne*=6,3) и *Xvir14* (*PIC*=0,86; *Ne*=7,1), а диагностически эффективными для идентификации генотипов с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью были аллели SSR-локуса *Xvir1* (*Ef*=82,3%), ассоциированного с геном *SKr,* а также *Xvir9* (*Ef*=66,7%) и *Xvir10* (*Ef*=72,5%) – маркеров гена *Kr1.* Совместное использование данных об аллельном составе SSR-локусов, ассоциированных с генами *SKr* и *Kr1,* позволило точнее описать полиморфизм участков, в которых локализованы эти гены, а также дифференцировать линии МП с учетом их географического происхождения и скрещиваемости с рожью. Расположение всех 14 SSR-локусов нанесено на физическую карту участков локализации генов *SKr* и *Kr1,* что может быть использовано для дальнейшего их позиционного клонирования. Данные об аллельном составе микросателлитных локусов у линий МП с высокой и низкой скрещиваемостью с рожью могут быть востребованы при подборе родительских пар для скрещивания и передачи этого признака в другие генотипы мягкой пшеницы.

## References/Литература


Alekseev Ya.I., Belov Yu.V., Malyuchenko O.P., Monakhova Yu.A., Natyrov A.N., Orekhov V.A., Konovalov S.V., Kurochkin V.E., Petrov A.I. Genetic analyser for DNA fragment analysis. *Nauchnoe Priborostroenie = Scientific instrumentation.* 2012;22(4):86-92. [in Russian] (Алексеев Я.И., Белов Ю.В., Малюченко О.П., Монахова Ю.А., Натыров А.Н., Орехов В.А., Коновалов С.В., Курочкин В.Е., Петров А.И. Генетический анализатор для фрагментного анализа ДНК. *Научное приборостроение*. 2012;22(4):86-92).

Alfares W., Bouguennec A., Balfourier F., Gay G., Bergès H., Vautrin S., Sourdille P., Bernard M., Feuillet C. Fine mapping and marker development for the crossability gene *SKr* on chromosome 5BS of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genetics*. 2009;183(2):469-481. DOI: 10.1534/genetics.109.107706

Barkley N.A., Dean R.E., Pittman R.N., Wang M.L., Holbrook C.C., Pederson G.A. Genetic diversity of cultivated and wild-type peanuts evaluated with M13-tailed SSR markers and sequencing. *Genetics Research*. 2007;89(2):93-106. DOI: 10.1017/S0016672307008695

Bertin I., Fish L., Foote T.N., Knight E., Snape J., Moore G. Development of consistently crossable wheat genotypes for alien wheat gene transfer through fine-mapping of the *Kr1* locus. *Theoretical and Applied Genetics.* 2009;119(8):1371-1381. DOI: 10.1007/s00122-009-1141-z

Bouguennec A., Lesage V.S., Gateau I., Sourdille P., Jahier J., Lonnet P. Transfer of recessive *skr* crossability trait into well-adapted French wheat cultivar Barok through marker-assisted backcrossing method. *Cereal Research Communications*. 2018;46(4):604-615. DOI: 10.1556/0806.46. 2018.043

Dice L. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology*. 1945;26:297-302.

Daunay A., Duval A., Baudrin L.G., Buhard O., Renault V., Deleuze J.F., How-Kit A. Low temperature isothermal amplification of microsatellites drastically reduces stutter artifact formation and improves microsatellite instability detection in cancer. *Nucleic Acids Research*. 2019;47(21):e141-e141. DOI: 10.1093/nar/gkz811

Dorokhov D.B., Klocke E. Rapid and economic technology of RAPD-analysis of plant genomes. *Molekulyarnaya Genetika = Molecular Genetics*. 1997;3(4):443-450. [in Russian] (Дорохов Д.Б., Клоке Э. Быстрая и экономичная технология RAPD анализа растительных геномов. *Молекулярная генетика*. 1997;3(4): 443-450).

IDT, Integrated DNA Technologies; 2025 [website]. Available from: https://eu.idtdna.com/calc/analyzer [accessed Dec. 20, 2025]

IWGSC CS. Genome assembly IWGSC CS RefSeq v2.1. NIH. NCBI. University of California, Davis, USA; 2021. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_018294505.1/ [accessed Dec. 20, 2025].

Khakimova A.G., Gubareva N.K., Koshkin V.A., Mitrofanova O.P. Genetic diversity and breeding value of synthetic hexaploid wheat introduced into the VIR collection. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(6):738-745. [in Russian] (Хакимова А.Г., Губарева Н.К., Кошкин В.А., Митрофанова О.П. Генетическое разнообразие и селекционная ценность синтетической гексаплоидной пшеницы, привлеченной в коллекцию ВИР. *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2019;23(6):738-745). DOI: 10.18699/VJ19.548

Lange W., Wojciechowska B. The crossing of common wheat (*Triticum aestivum* L.) with cultivated rye (*Secale cereale* L.). I. Crossability, pollen grain germination and pollen tube growth. *Euphytica*. 1976;25(1):609-620. DOI: 10.1007/BF00041598

Lein A. Die Genetische Grundlage der Kreuzbarkeit Zwischen Weizen und Roggen. *Zeitschrift für Induktive Abstammungs und Vererbungslehre*. 1943;81(1):28-61. DOI: 10.1007/BF01847441 [in German]

Leonova I.N. Molecular markers: Implementation in crop plant breeding for identification, introgression and gene pyramiding. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. 2013;3(6):464-473. DOI: 10.1134/S2079059713060051

Li Y.C., Korol A.B., Beiles A., Nevo E. Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. *Molecular Ecology*. 2002;11(12):2453-2465. DOI: 10.1046/j.1365-294X.2002.01643.x

Merezhko A.F., Erohin L.M., Judin A.E. An efficient method of grain crop pollination. Guidelines (Effektivnyy metod opyleniya zernovykh kultur: metodicheskiye ukazaniya). Leningrad: VIR; 1973. [in Russian] (Мережко А.Ф., Ерохин Л.М., Юдин А.Е. Эффективный метод опыления зерновых культур: методические указания. Л.: ВИР; 1973).

Mitrofanova O.P., Strel’chenko P.P., Konarev A.V., Balfor’er F. Genetic differentiation of hexaploid wheat inferred from analysis of microsatellite loci. *Russian Journal of Genetics*. 2009;45;1351-1359. DOI: 10.1134/S102279540911009X

Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1973;70(12):3321-3323. DOI: 10.1073/pnas.70.12.3321

Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M. Unipro UGENE: A unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics.* 2012;28(8):1166-1167. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts091

Peakall R.O.D., Smouse P.E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*. 2012;28(19):2537-2539. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts460

Pisarev V.E. Amphidiploids «spring wheat × spring rye». *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 1960;32(2):37-56. [in Russian] (Писарев В.Е. Амфидиплоиды «яровая пшеница × яровая рожь. *Труды по прикладной ботанике,*

*генетике и селекции*. 1960;32(2):37-56).
Pompanon F., Bonin A., Bellemain E., Taberlet P. Genotyping errors: causes, consequences and solutions. *Nature Reviews Genetics*. 2005;6(11):847-859. DOI: 10.1038/nrg1707
Porotnikov I.V., Puykkenen V.P., Antonova O.Yu., Mitrofanova O.P. The efficiency of molecular markers of the *SKr* suppressor gene that determines the crossability of common wheat with rye. *Ecological genetics*. 2022;20(3):203-214. [in Russian] (Поротников И.В., Пюккенен В.П., Антонова О.Ю., Митрофанова О.П. Эффективность молекулярных маркеров гена-супрессора *SKr*, определяющего скрещиваемость мягкой пшеницы с рожью посевной. *Экологическая генетика*. 2022;20(3):203-214). DOI: 10.17816/ecogen110867
Porotnikov I.V., Khakimova A.G., Antonova O.Yu., Mitrofanova O.P. The diversity of bread wheat landraces from Asia and synthetic hexaploid wheat by alleles of loci linked to the *SKr* gene – a suppressor of crossability of bread wheat with rye. *Turczaninowia*. 2025;28(3):30-42. [in Russian] (Поротников И.В., Хакимова А.Г., Антонова О.Ю., Митрофанова О.П. Разнообразие стародавней мягкой пшеницы из Азии и синтетической гексаплоидной пшеницы по аллелям маркерных локусов, сцепленных с геном *SKr* – супрессором скрещиваемости мягкой пшеницы с рожью. *Turczaninowia*. 2025;28(3):30-42). DOI: 10.14258/turczaninowia.28.3.3
Pyukkenen V.P. Bread wheat collection arranged according to good crossability with rye. In: *Genetic resources of cultivated plants in the XXI century: Current state, problems and prospects: Abstracts of the II Vavilov International Conference; 2007 November 26–30; St. Petersburg, Russia*. St. Petersburg: VIR; 2007. p.583-585. [in Russian] (Пюккенен В.П. Коллекция мягкой пшеницы по признаку хорошей скрещиваемости с рожью. В кн.: *Генетические ресурсы культурных растений в XXI веке: состояние, проблемы, перспективы: тезисы докладов II Вавиловской международной конференции; 26–30 ноября 2007 г.; Санкт-Петербург, Россия*. Санкт-Петербург: ВИР; 2007. С.583-585).
Rekhmetulin R.M. Crossability in argentine spring soft wheat varieties with diploid and tetraploid rye. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 1987;111:77-81. [in Russian] (Рехметулин Р.М. Скрещиваемость аргентинских сортов яровой мягкой пшеницы с диплоидной и тетраплоидной рожью. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 1987;111:77-81).
Rigin B.V. Crossability of wheat with rye. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 1976;58(1):12-34. [in Russian] (Ригин Б.В. Скрещиваемость пшеницы с рожью. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 1976;58(1):12-34).
Röder M.S., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M.H., Leroy P., Ganal M.W. A microsatellite map of wheat. *Genetics*. 1998;149(4):2007-2023. DOI: 10.1093/genetics/149.4.2007
Roussel V., Koenig J., Beckert M., Balfourier F. Molecular diversity in French bread wheat accessions related to temporal trends and breeding programmes. *Theoretical and Applied Genetics*. 2004;108(5):920-930. DOI: 10.1007/s00122-003-1502-y
Rui M., Zheng D.S., Fan L. The crossability percentages of 96 bread wheat landraces and cultivars from Japan with rye. *Euphytica*. 1995;92(3):301-306. DOI: 10.1007/BF00037112
Samarina M.A., Uliyanov D.S., Mokhov T.D., Meglitskaya Ya.S., Krupin P.Yu., Karlov G.I., Kharchenko P.N., Voronov S.I., Davydova N.V., Divashuk M.G. Selection of molecular markers for genetic certification of *Triticum aestivum*. *Grain Economy of Russia*. 2024;16(4):33-40. [in Russian] (Самарина М.А., Ульянов Д.С., Мохов Т.Д., Меглицкая Я.С., Крупин П.Ю., Карлов Г.И., Харченко П.Н., Воронов С.И., Давыдова Н.В., Дивашук М.Г. Отбор молекулярных маркеров для генетической паспортизации *Triticum aestivum*. *Зерновое хозяйство России*. 2024;16(4):33-40). DOI: 10.31367/2079-8725-2024-93-4-33-40
Surikov I.M., Kissel N.I. Inheriting of winter wheat–rye good crossability. *Cytology and Genetics*. 1980;14(4):71-73. [in Russian] (Суриков И.М., Киссель Н.И. Наследование хорошей скрещиваемости озимой пшеницы с рожью. *Цитология и генетика*. 1980;14(4):71-73).
Tautz D., Renz M. Simple sequences are ubiquitous repetitive component of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Research*. 1984;12(10):4127-4138. DOI: 10.1093/nar/12.10.4127
Temnykh S., DeClerck G., Lukashova A., Lipovich L., Cartinhour S., McCouch S. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon association, and genetic marker potential. *Genome Research*. 2001;11(8):1441-1452. DOI: 10.1101/gr.184001
Thuillet A.C., Bru D., David J., Roumet P., Santoni S., Sourdille P., Bataillon T. Direct estimation of mutation rate for 10 microsatellite loci in durum wheat, *Triticum turgidum* (L.) Thell. ssp durum Desf. *Molecular Biology and Evolution*. 2002;19(1):122-125. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a003977
Tixier M.H., Sourdille P., Charmet G., Gay G., Jaby C., Cadalen T., Bernard S., Nicolas P., Bernard M. Detection of QTLs for crossability in wheat using a doubled-haploid population. *Theoretical and Applied Genetics*. 1998;97(7):1076-1082. DOI: 10.1007/s001220050994
Totsky I.V., Rozanova I.V., Safonova A.D., Batov A.S., Gureeva Yu.A., Khlestkina E.K., Kochetov A.V. Genotyping of potato samples from the GenAgro ICG SB RAS collection using DNA markers of genes conferring resistance to phytopathogens. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(6):677-686. DOI: 10.18699/VJ21.077
Voorrips R.E. MapChart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *Journal of Heredity*, 2002;93(1):77-78. DOI: 10.1093/jhered/93.1.77
Ward J.H. Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of the American Statistical Association*. 1963;58(301):236-244.
Ye J., Coulouris G., Zaretskaya I., Cutcutache I., Rozen S., Madden T.L. Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics*. 2012;13:134. DOI: 10.1186/1471-2105-13-134
Zeven A.C. Crossability percentages of some 1400 bread wheat varieties and lines with rye. *Euphytica*. 1987;36(1):299-319. DOI: 10.1007/BF00730677

## *Информация об авторах*

**Поротников Игорь Вадимович,** 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, i.v.porotnikov@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-5841-8803

**Антонова Ольга Юрьевна,** 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

**Митрофанова Ольга Павловна,** доктор биологических наук, главный научный сотрудник, отдел генетических ресурсов пшеницы, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, o.mitrofanova@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0002-9171-2964

## *Information about the authors*

**Igor V. Porotnikov,** Researcher, Laboratory of Molecular Breeding and DNA Passportization, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, i.v.porotnikov@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-5841-8803
**Olga Yu. Antonova,** Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Head, Laboratory of Molecular Breeding and DNA Passportization, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, olgaant326@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-8334-8069
**Olga P. Mitrofanova,** Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher, Department of Wheat Genetic Resources, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, o.mitrofanova@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0002-9171-2964

***Вклад авторов:*** концептуализация – ИВП, ОЮА, ОПМ; методология, валидация, исследование – ИВП, ОЮА; Написание черновика – ИВП, ОЮА, ОПМ; Рецензирование, редактирование – ОПМ
***Contribution of the authors:*** conceptualization – IVP, OYuA, OPM; methodology, validation, investigation – IVP, OYuA; writing of the original draft – all the authors: IVP, OYuA, OPM; reviewing – editing – OPM
***Конфликт интересов:*** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
***Conflict of interests:*** the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 27.03.2026; одобрена после рецензирования 09.07.2026; принята к публикации 28.08.2026.
The article was submitted on 27.03.2026; approved after reviewing on 09.07.2026; accepted for publication on 28.08.2026.

**Научная статья**
**УДК 631.523.11**
**DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o3**

(cc) BY

# Идентификация генов, ассоциированных с устойчивостью льна к пасмо

**А. С. Симагина, Е. А. Вертикова**

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия

***Автор, ответственный за переписку:*** Анастасия Сергеевна Симагина, klepikova.anastasi@yandex.ru

**Актуальность.** Пасмо (септориоз) льна, вызываемое патогенным грибом *Septoria linicola* (Speg.) Garass, представляет собой одно из наиболее экономически вредоносных заболеваний этой культуры. Болезнь наносит значительный ущерб, приводя к существенному снижению урожайности и ухудшению качества волокна и семян. Отсутствие в производстве устойчивых сортов обусловливает высокую актуальность поиска и молекулярной идентификации генов устойчивости для их последующего использования в селекционных программах. **Материалы и методы.** Объектом исследования служили 46 сортов льна *Linum usitatissimum* L., из которых 29 относились к льну-долгунцу и 17 – ко льну масличному. В работе проводили ПЦР-скрининг на наличие двух генов-кандидатов устойчивости к пасмо: *Lus10003106,* кодирующего рецептор-подобную киназу, участвующую в индуцированном патогенами иммунитете (PTI), и *Lus10022077,* кодирующего белок семейства NBS-LRR, ключевой для эффектор-индуцированного иммунитета (ETI). Амплификацию целевых фрагментов проводили методом qPCR-RT со специфичными праймерами. **Результаты.** В результате ПЦР-анализа ген *Lus10003106* был выявлен у 18 из 29 изученных сортов льна-долгунца. Ген *Lus10022077* идентифицирован у 16 сортов льна-долгунца и 11 сортов льна масличного. Молекулярный анализ показал наличие обоих исследуемых генов у 13 образцов льна-долгунца. **Заключение.** Проведенный скрининг позволил выявить сорта льна, у которых обнаружены соответствующие гены, ассоциированные с различными типами иммунного ответа – базовым (PTI) и специфичным (ETI). Наличие целевых генов у исследуемых образцов указывает на потенциальную устойчивость к пасмо, однако требует дальнейшего подтверждения в фитопатологических исследованиях с использованием штаммов из популяции льносеющих регионов России. Данные генотипы могут представлять потенциальную ценность в качестве доноров для селекционных программ, направленных на создание сортов льна с высокой устойчивостью к патогену.

***Ключевые слова*:** лен-долгунец, лен масличный, *Septoria linicola*, устойчивость, ПЦР-анализ, селекция, маркеры, генетический анализ

***Для цитирования:*** Симагина А.С., Вертикова Е.А. Идентификация генов, ассоциированных с устойчивостью льна к пасмо. *Биотехнология и селекция растений*. 2026;9(3):61-69. DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o3

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

© Симагина А.С., Вертикова Е.А., 2026

**Original article**
**DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o3**

# Identification of genes associated with flax resistance to pasmo

**Anastasia S. Simagina, Elena A. Vertikova**

Russian State Agrarian University – Moscow K.A. Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia

***Corresponding author:*** Anastasia S. Simagina, klepikova.anastasi@yandex.ru

**Background.** Pasmo disease of flax caused by the pathogenic fungus *Septoria linicola* (Speg.) Garass is one of the most economically damaging diseases of this crop. The disease causes significant losses, leading to a substantial reduction in yield and deterioration of fiber and seed quality. The lack of resistant cultivars in commercial production makes the search for and molecular identification of resistance genes highly relevant for their subsequent use in breeding programs. **Materials and methods.** The study objects were 46 *Linum usitatissimum* L. cultivars, 29 of which were fiber flax and 17 oilseed flax. PCR screening was performed for two candidate genes for pasmo resistance: *Lus10003106*, encoding a receptor-like kinase involved in pathogen-triggered immunity (PTI), and *Lus10022077*, encoding an NBS-LRR family protein, which is key to effector-triggered immunity (ETI). Amplification of target fragments was carried out by qPCR-RT with specific primers. **Results**. As a result of PCR analysis, the *Lus10003106* gene was detected in 18 out of 29 studied fiber flax cultivars. The *Lus10022077* gene was identified in 16 fiber flax and 11 oilseed flax cultivars. Molecular analysis showed the presence of both candidate genes in 13 fiber flax accessions. **Conclusion**. The conducted screening allowed the identification of flax accessions carrying the respective genes associated with different types of immune response – basal (PTI) and specific (ETI). The presence of candidate genes in the studied accessions indicated potential resistance to pasmo; however, this requires further confirmation through phytopathological studies using strains from flax-growing regions of Russia. These genotypes may be of potential value as donors in breeding programs aimed at developing flax cultivars with high resistance to the pathogen.

***Keywords***: flax, oilseed flax, *Septoria linicola*, resistance, PCR analysis, breeding, markers, genetic analysis

***For citation:*** Simagina A.S, Vertikova E.A. Identification of genes associated with flax resistance to pasmo. *Plant Biotechnology and Breeding.* 2026;9(3):61-69. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o3

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

© Simagina A.S, Vertikova E.A., 2026

## Введение

Лен культурный *Linum usitatissimum* L. является важной сельскохозяйственной культурой, имеющей многоцелевое значение – от производства текстильных волокон до получения пищевого и технического масла (Kutuzova et al., 2015; Porokhovinova et al., 2018). Однако продуктивность льна и качество его продукции существенно ограничиваются воздействием биотических стрессов (Akhmetshina et al., 2020; Kolotov, Porokhovinova, 2025). Пасмо (септориоз) – одно из наиболее вредоносных и распространенных болезней в льносеющих регионах мира, особенно в странах с умеренным климатом. Эта болезнь, вызываемая грибом *Septoria linicola* (Speg.) Garass., поражает все надземные органы растения, может приводить к сильным потерям урожая, достигающим 50% и более, а также к резкому снижению качества волокна и масличности семян (Kudryavtseva, Rozhmina, 2023).

На льне вредоносность пасмо проявляется в основном в предуборочный период. В настоящее время устойчивые сорта льна-долгунца и льна масличного в производстве отсутствуют (Kudryavtseva, Rozhmina, 2023). В России пасмо является внутренним карантинным объектом для льна масличного, в связи с чем при обнаружении болезни вводятся строгие ограничения на вывоз и использование семенного материала из зараженных зон. Данный патоген имеет карантинный статус и в ряде других стран, в числе которых Беларусь, Египет, Китай, Южная Корея, Узбекистан, закупающие льнопродукцию в России. Это подчеркивает экономическую значимость необходимости разработки эффективных методов контроля патогена (Dudchenko et al., 2022). Селекция устойчивых сортов остаётся наиболее эффективной стратегией борьбы с заболеванием, однако её успех зависит от понимания генетических основ иммунитета (Simagin et al., 2023). Устойчивость растений к патогенам часто контролируется генами, кодирующими белки, участвующие в распознавании инфекции и запуске защитных реакций (Ali et al., 2024). Ключевыми из них являются два больших семейства: рецептор-подобные киназы (RLK), отвечающие за распознавание консервативных молекулярных паттернов патогена и опосредующие PAMP (от англ. Pathogen-Associated Molecular Patterns)-триггерный иммунитет (PTI), и белки TIR-NBS-LRR, которые обеспечивают специфичное распознавание эффекторов патогена и запуск эффектор-индуцированного иммунитета (ETI; Jones, Dangl, 2006; Boller, Felix, 2009; Zipfel, 2014).

В последние годы значительный прогресс в изучении устойчивости растений к грибным патогенам связан с использованием геномных и молекулярно-генетических методов, включая анализ последовательностей генов, транскриптомные исследования и идентификацию генов-кандидатов иммунного ответа (Porokhovinova et al., 2021). Показано, что рецептор-подобные киназы и белки семейства NBS-LRR играют важную роль в формировании устойчивости растений к различным фитопатогенам и могут использоваться в качестве маркеров при оценке генетических ресурсов сельскохозяйственных культур (He et al., 2019; Chen et al., 2025).

Несмотря на значительный прогресс в изучении механизмов иммунитета растений, молекулярно-генетические основы устойчивости льна к возбудителю пасмо остаются недостаточно изученными (Zipfel, 2014). Для льна культурного проводятся исследования по выявлению генов, потенциально вовлечённых в формирование устойчивости к возбудителю пасмо *Septoria linicola*. В частности, показано наличие генов, кодирующих рецептор-подобные киназы, которые рассматриваются как кандидаты, участвующие в иммунном ответе растения на заражение (Chen et al., 2025). Однако распространённость данных генов в коллекциях сортов льна и их связь с устойчивостью к заболеванию остаются малоисследованными, что определяет актуальность работы в этом направлении.

В исследованиях He с соавторами (He et al., 2019) с использованием полногеномного поиска ассоциаций (GWAS) были идентифицированы ключевые геномные области, контролирующие устойчивость к *S. linicola*. В частности, было установлено, что устойчивость к пасмо носит полигенный характер, а наиболее значимые QTL локализованы на хромосомах 1, 3, 6 и 9 (He et al., 2019). Эти области часто перекрываются с кластерами генов, кодирующих белки с доменами NBS-LRR (Nucleotide Binding Site-Leucine Rich Repeat).

Особое внимание исследователей сосредоточено на функциональных маркерах (табл. 1), разработанных непосредственно на основе последовательностей генов-кандидатов. К ним относятся:

1. Гены семейства RLK (Receptor-like kinases), которые кодируют поверхностные рецепторы, распознающие хитин гриба или другие паттерны патогена (PAMP). Маркеры к генам типа *Lus10003106* позволяют выявлять потенциал базового иммунитета (PTI), который обеспечивает широкую, хотя и не всегда абсолютную устойчивость (You et al., 2022).

2. Гены семейств TNL и CNL (NBS-LRR), например, *Lus10022077*. Маркеры к этим генам ассоциированы со специфичным распознаванием эффекторов *S. linicola*.

Большинство из разработанных маркеров для генов-кандидатов было получено и апробировано на коллекциях североамериканского или китайского происхождения. Необходима проверка их эффективности на российском селекционном материале с использованием штаммов (изолятов) патогена, выделенных из растительного материала культуры, собранного в льносеющих регионах Российской Федерации.

В связи с этим актуальной задачей является выявление генов-кандидатов, потенциально связанных с устойчивостью льна к пасмо, у российских образцов, что может способствовать разработке молекулярных подходов к оценке селекционного материала и дальнейшему изучению генетических механизмов устойчивости (Akhmetshina et al., 2020).

**Таблица 1. Характеристика праймеров и генов-кандидатов *Lus10003106* и *Lus10022077***

**Table 1. Characteristics of primers and candidate genes *Lus10003106* and *Lus10022077***

| Характеристика/ Characteristic | Ген-кандидат/ Candidate gene | |
|---|---|---|
| | ***Lus10003106*** | ***Lus10022077*** |
| Последовательность 5'→3'/ Sequence 5'→3' F | TGTCCTCATTACCTTGGGAG | GGCTGGATTAGTTGTCAAGG |
| Последовательность 5'→3'/ Sequence 5'→3' R | GAATCTTGCGGTATTCGGAG | CCGTTAAATCAGTCAGCGAA |
| Локализация в геноме/ Location in the genome | Хромосома 1 | Хромосома 6 |
| Размер гена (пн)/ Gene size (bp) | ~2100 | ~3400 |
| Размер ампликона (пн)/ Amplicon size (bp) | 126 | 114 |
| Область посадки/ Annealing site | Экзон (киназный домен) | Экзон (NBS-домен) |
| Аннотированное название/ Annotated name | Рецептор-подобная киназа 10 (RLK10) | Белок семейства NBS-LRR |
| Класс белка, Семейство/ Protein class, family | LecRLK (Lectin Receptor-Like Kinase) | CNL (CC-NBS-LRR) |
| Предполагаемая молекулярная функция/ Proposed function at molecular level | Распознавание углеводных лигандов (например, компонентов клеточной стенки патогенов); АТФ-связывание; протеинкиназная активность. | Связывание АТФ/АДФ; распознавание эффекторов патогенов (Avr-белков); активация сигнальных каскадов защиты. |
| Биологическая роль в иммунитете/ Biological role in immunity | PAMP-триггерный иммунитет (PTI). Базовая, широкая устойчивость. Выполняет роль паттерн-распознающего рецептора (PRR) на поверхности клетки. | Effector-Triggered Immunity (ETI) специфичная, мощная устойчивость. Выполняет роль внутриклеточного R-белка (гена устойчивости). |
| Ожидаемый фенотип при активации гена/ Expected phenotype when gene is activated | Активация MAPK-каскада, усиление клеточной стенки, продукция активных форм кислорода (АФК), экспрессия генов PR-белков. | Запрограммированная гибель клеток (HR - гиперчувствительный ответ), системная приобретенная устойчивость (SAR). |
| Потенциальная роль в устойчивости к пасмо/ Potential role in pasmo resistance | Распознавание консервативных структур *S. linicola*, обеспечение начального барьера для инфекции. | Специфичное распознавание эффекторов *S. linicola*, запуск сильной локализованной реакции для подавления биотрофной/ гемибиотрофной фазы патогена. |

Целью настоящего исследования являлось выявление генов-кандидатов *Lus10003106 и Lus10022077,* потенциально связанных с иммунным ответом растений, у образцов льна различного происхождения и оценка возможности применения соответствующих молекулярных маркеров для скрининга селекционного материала.

## Материалы и методы

Исследование проводили в генетической лаборатории кафедры генетики, селекции и семеноводства Российского государственного аграрного университета – МСХА им. К.А. Тимирязева. Для научных исследований использовали 29 сортов льна-долгунца и 17 сортов льна масличного различного происхождения из биоресурсной коллекции кафедры (табл. 2).

Выделение геномной ДНК из растительного материала проводили с использованием роботизированной станции выделения ДНК Allsheng 32s и набора «MagPurePlant DNA Kit» (Guangzhou Magen Biotechnology Co., Ltd, Китай) согласно инструкции производителя. На основании рекомендаций производителя подобрано оптимальное количество растительной ткани и реагентов для выделения ДНК (20-25 мг). Гомогенизацию растительного материала проводили на приборе AllshengBioprep-24 (Allsheng, Китай) в пробирках, содержащих металлические шарики диметром 3 мм. Качество и концентрацию выделенной ДНК определяли на флуориметре Fluo-200 (Allsheng, Китай) с использованием набора «QuDyeds DNA HS», предназначенного для высокочувствительного определения двуцепочечной ДНК в диапазоне 0,1-100 нг/мл. Оценку чистоты ДНК на предмет отсутствия белковых и фенольных контаминаций проводили методом спектрофотометрии на микрообъёмном спектрофотометре K5500Plus (Drawell, Китай) по соотношению оптических плотностей при 260 и 280 нм (A~260~/A~280~).

**Таблица 2. Характеристика сортов льна, используемых в исследовании**

**Table 2. Characteristics of the cultivars used in the study**

| Сорт/ Cultivar | Устойчивость к пасмо/ Resistance to pasmo | Оригинатор/ Breeding Institution |
|---|---|---|
| **Сорта льна-долгунца/ Fiber flax cultivar** | | |
| ‘Веста’ | нет данных | РУП «Институт льна», г. Орша, НАН Беларуси |
| ‘Грант’ | относительно устойчивый (Kudryavtseva, Rozhmina, 2023) | |
| ‘А 29’ | нет данных | Федеральный научный центр лубяных культур, обособленное подразделение НИИ льна (ОП НИИЛ), г. Торжок |
| ‘Алексим’ | нет данных | |
| ‘Альфа’ | сильно восприимчивый (State Register, 2024) | |
| ‘Атлант’ | нет данных | |
| ‘Полёт’ | нет данных | |
| ‘Дипломат’ | нет данных | |
| ‘Надежда’ | нет данных | |
| ‘Росинка’ | Восприимчивый(State Register, 2024) | |
| ‘Новоторжский’ | нет данных | |
| ‘Факел’ | нет данных | |
| ‘Универсал’ | нет данных | |
| ‘Тонус’ | нет данных | |
| ‘Торжокский 4’ | нет данных | |
| ‘Феникс’ | нет данных | |
| ‘Крепыш’ | нет данных | |
| ‘Квартет’ | нет данных | |
| ‘Мерилин’ | нет данных | Van de BiltZaden BV, г. Слуискил, Нидерланды |
| ‘Антей’ | нет данных | Федеральный научный центр лубяных культур, обособленное подразделение Псковский НИИСХ (ОП Псковский НИИСХ), г. Псков |
| ‘Добрыня’ | нет данных | |
| ‘Восход’ | нет данных | |
| ‘Памяти Крепкова’ | нет данных | Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН (СФНЦА РАН), г. Томск |
| ‘Томич’ | нет данных | |
| ‘Томич 2’ | нет данных | |
| ‘Томский 17’ | нет данных | |
| ‘Томский 18’ | нет данных | |
| ‘Тост 5’ | нет данных | |
| ‘Белинка’ | нет данных | Limagrain Nederland B.V., Нидерланды |
| **Сорта льна масличного/oil flax cultivar** | | |
| ‘ВНИИМК 620’ | нет данных | Федеральный научный центр Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В.С. Пустовойта (ФНЦ ВНИИМК), г. Краснодар |
| ‘ВНИИМК 620 ФН’ | нет данных | |
| ‘Даник’ | нет данных | |
| ‘Флиз’ | нет данных | |
| ‘Нилин’ | нет данных | |
| ‘Ы 117’ | нет данных | |
| ‘Ы 220’ | нет данных | |
| ‘Северный’ | нет данных | |
| ‘Светлячок’ | нет данных | |
| ‘Радуга’ | нет данных | |
| ‘РФН’ | нет данных | |
| ‘Ручеёк’ | нет данных | |
| ‘Бирюза’ | нет данных | |
| ‘Небесный’ | нет данных | |
| ‘Амбер’ | нет данных | |
| Leona | сильно восприимчивый (Kudryavtseva, Rozhmina, 2023) | Tex Nord, Франция |
| ‘ЛМ 98’ | нет данных | Федеральный научный центр лубяных культур, обособленное подразделение НИИ льна (ОП НИИЛ), г. Торжок |

Оптимальными считали значения в диапазоне 1,8-2,0. Образцы с соотношением A~260~/A~280~ < 1,7 подвергали повторной очистке. В исследовании использовали праймеры для идентификации генов-кандидатов *Lus10003106* и *Lus10022077*, разработанные на основе данных полногеномного секвенирования и верифицированные методом NCBI BLAST (Chen et al., 2023). Выбор данных пар праймеров обусловлен их специфичностью к целевым локусам и локализацией в функционально значимых экзонах. Длина ожидаемых продуктов амплификации составила 126 пн для *Lus10003106* и 114 пн для *Lus10022077*. Амплификация данных фрагментов позволяет судить о наличии структурного остова целевых генов в исследуемых генотипах. Для оценки воспроизводимости результатов и исключения ложноположительных срабатываний каждый образец анализировали в трех технических повторностях для каждого гена-кандидата. Отрицательным контролем был вариант реакционной смеси, не содержавший в своем составе матрицы ДНК. ПЦР в реальном времени проводили на амплификаторе DtPrime 5 (ДНК-технология, Россия) с использованием набора реактивов 5X qPCRmix-HS (Евроген, Россия) и интеркалирующего красителя 50X SYBR Green I (Евроген, Россия). ПЦР проводили в объеме 25 мкл. Условия амплификации подбирали экспериментально для каждой пары праймеров. Амплификацию гена *Lus10003106* проводили при следующих условиях*:* начальная денатурация при 95°C – 7 минут, отжиг праймеров при 60°C – 30 секунд, элонгация при 72°C – 1 минуту, финальная элонгация при 72°C – 10 минут, количество циклов – 40. В случае гена *Lus10022077* температурный режим был следующим: начальная денатурация при 95°C – 7 минут, отжиг праймеров при 60°C – 15 секунд, элонгация при 72°C – 45 секунд, финальная элонгация при 72°C – 15 минут, количество циклов – 40.

## Результаты и обсуждение

В ходе работы были проанализированы 46 образцов льна, включая 29 сортов льна-долгунца и 17 сортов льна масличного. Для каждого образца оценивали наличие целевых фрагментов двух генов: *Lus10003106* (RLK, PTI) и *Lus10022077* (NBS-LRR, ETI). Эксперименты проводили в трёх технических повторностях. Критериями положительного результата служили: наличие экспоненциального накопления флуоресцентного сигнала с пороговым циклом (Ct) менее 35, а также наличие единичного четкого пика на кривой плавления, температура плавления (Tm) которого соответствовала расчетным значениям для целевых ампликонов, а именно 82,5±1,5°C для *Lus10003106* и 81,2±1,5°C для *Lus10022077*. Образцы, демонстрирующие накопление флуоресцентного сигнала с Ct>38 или имеющие неспецифичные пики на кривой плавления, классифицировали как отрицательные по наличию фрагмента целевого гена (табл. 3).

Проведенный qPCR-RT анализ 46 сортов льна, среди которых были использованы 29 сортов льна-долгунца и 17 льна масличного, с использованием молекулярных маркеров, разработанных для генов-кандидатов *Lus10003106* и *Lus10022077* (He et al., 2019; Chen et al., 2023) позволил установить наличие или отсутствие соответствующих целевых фрагментов генов у образцов льна-долгунца и льна масличного.

При анализе гена *Lus10003106* установлено, что целевой фрагмент этого гена присутствует преимущественно у сортов льна-долгунца. Из 29 проанализированных сортов специфичная амплификация с образованием целевого продукта зарегистрирована у 18, что составило 62,1% от общего числа исследованных сортов. У всех положительных образцов значения Ct находились в диапазоне от 24,8 до 31,2, кривые плавления демонстрировали единичный пик с температурой плавления 82,3-83,1°C, что соответствует специфичному ампликону длиной 126 пн.

У льна масличного ген *Lus10003106* не был выявлен ни у одного из 17 исследованных сортов. Накопление флуоресцентного сигнала не превышало порогового уровня (Ct>38), а кривые плавления либо не демонстрировали характерных пиков, либо содержали пики в области низких температур (68-75°C), что свидетельствует о неспецифичной амплификации или образовании праймер-димеров, но не о наличии целевого фрагмента гена.

Нами установлено, что специфичная амплификация целевого фрагмента гена *Lus10022077* характерна для сортов изученной коллекции в большей степени. Высокая частота встречаемости данного гена указывает на его консервативность и возможную значимость в формировании защитных реакций у льна (Chen et al., 2023). В случае льна-долгунца амплификация целевого фрагмента нами зарегистрирована у 16 из 29 сортов (55,2%). Значения Ct для положительных образцов варьировали от 26,1 до 32,4, температура плавления составляла 80,8-82,0°C, что соответствует целевому ампликону длиной 114 пн. В случае льна масличного ген *Lus10022077* идентифицирован у 11 из 17 сортов (64,7%). Положительные образцы характеризовались Ct в диапазоне 27,3-33,6 и Tm 80,5-81,9°C. Отрицательными в отношении целевого фрагмента данного гена оказались сорта льна-долгунца ‘Веста’, ‘Альфа’, ‘Дипломат’, ‘Надежда’, ‘Росинка’, ‘Мерилин’, ‘Новоторжский’, ‘Факел’, ‘Универсал’, ‘Томич’, ‘Томич 2’, ‘Восход’, ‘Белинка’ и сорта льна масличного ‘Нилин’, ‘Ы 117’, ‘Северный’, ‘Радуга’, ‘Небесный’, ‘ЛМ 98’. У этих образцов либо отсутствовало накопление флуоресцентного сигнала (Ct>38), либо кривые плавления имели сложную конфигурацию, не позволяющую однозначно интерпретировать наличие специфичного продукта.

Наибольший интерес для селекционных программ представляют образцы, у которых выявлено одновременное присутствие обоих исследуемых генов (He et al., 2019; Chen et al., 2023). Такие образцы потенциально могут обладать двухуровневой устойчивостью, сочетающей базовый (PTI) и специфичный (ETI) иммунные ответы (Jones, Dangl, 2006; Boller, Felix, 2009; Zipfel, 2014;

**Таблица 3. Идентификация генов *Lus10003106* и *Lus10022077* у сортов льна-долгунца и льна масличного**

**Table 3. Identification of *Lus10003106* and *Lus10022077* genes in fiber flax and oil flax cultivars**

| Сорт/ Cultivar | Наличие гена *Lus*/ *Lus* gene presence | | Сорт/ Cultivar | Наличие гена *Lus*/ *Lus* gene presence | |
|---|---|---|---|---|---|
| | *10003106* | *10022077* | | *10003106* | *10022077* |
| ‘Веста’ | + | - | ‘Грант’ | + | + |
| ‘А 29’ | +* | +* | ‘Новоторжский’ | - | - |
| ‘Алексим’ | + | + | ‘Факел’ | - | - |
| ‘Альфа’ | + | - | ‘Универсал’ | + | - |
| ‘Атлант’ | + | + | ‘Тонус’ | + | + |
| ‘Тост 5’ | - | + | ‘Торжокский 4’ | + | + |
| ‘Дипломат’ | - | - | ‘Феникс’ | + | + |
| ‘Надежда’ | - | - | ‘Крепыш’ | - | + |
| ‘Росинка’ | - | - | ‘Квартет’ | + | + |
| ‘Антей’ | - | + | ‘Полёт’ | + | + |
| ‘Мерилин’ | - | - | ‘Добрыня’ | + | + |
| ‘Восход’ | - | - | ‘Белинка’ | - | - |
| ‘Памяти Крепкова’ | + | + | ‘Томский 17’ | + | + |
| ‘Томич’ | + | - | ‘Томский 18’ | + | + |
| ‘Томич 2’ | + | - | ‘Leona’ | - | + |
| ‘ВНИИМК 620’ | - | + | ‘Северный’ | - | - |
| ‘ВНИИМК 620 ФН’ | - | + | ‘Светлячок’ | - | + |
| ‘Даник’ | - | + | ‘Радуга’ | - | - |
| ‘Флиз’ | - | + | ‘РФН’ | - | + |
| ‘Нилин’ | - | - | ‘Ручеёк’ | - | + |
| ‘Ы 117’ | - | - | ‘Бирюза’ | - | + |
| ‘Ы 220’ | - | + | ‘Небесный’ | - | - |
| ‘Амбер’ | - | + | ‘ЛМ 98’ | - | - |

* – совместное присутствие обоих исследуемых генов в образцах отмечено цветом/ the combined presence of both studied genes in the accessions is marked in color

You et al., 2022; Chen et al., 2023). В ходе проведенного нами скрининга установлено, что оба локуса присутствуют у 13 сортов льна-долгунца: ‘Алексим’, ‘Торжокский 4’, ‘Феникс’, ‘Памяти Крепкова’, ‘Томский 17’, ’Томский 18’, ‘Добрыня’, ‘Квартет’, “Грант”, ‘Атлант’, ‘Полёт’, ‘Тонус’, ‘А 29’. При этом сорта льна-долгунца ‘Новоторжский’, ‘Факел’, ‘Дипломат’, ‘Надежда’, ‘Росинка’, ‘Мерилин’, ‘Восход’, ‘Белинка’ и сорта льна масличного ‘Нилин’, ‘Ы 117’, ‘Северный’, ‘Радуга’, ‘Небесный’, ‘ЛМ 98’ не содержат ни одного из исследуемых генов либо содержат только один из них.

Несмотря на то, что амплифицируемые фрагменты имеют небольшую длину, их наличие в геноме является надежным индикатором присутствия в нем соответствующих генов. Согласно опубликованным данным (Chen et al., 2023), уровень экспрессии генов-кандидатов *Lus10003106* и *Lus10022077* при инокуляции патогенном *Septoria linicola* существенно выше у устойчивых образцов. Это позволяет рассматривать наличие или отсутствие ампликона в качестве эффективного молекулярного маркера для первичного скрининга селекционного материала.

Следует отметить, что полученные нами результаты отражают наличие генов, потенциально связанных с устойчивостью к пасмо, но не позволяют напрямую судить о фактической степени устойчивости исследованных сортов без проведения фитопатологической оценки. Для подтверждения фенотипического проявления устойчивости у выявленных генотипов льна планируется проведение фитопатологических испытаний с искусственным заражением штаммами (изолятами) *Septoria linicola*, выделенными из растительного материала, собранного в льносеющих регионах Российской Федерации. Наличие целевых фрагментов генов *Lus10003106* и *Lus10022077* устойчивости к заболеванию сортов подтвердит диагностическую значимость использованных молекулярных маркеров. Сорта, сочетающие в себе гены *Lus10003106* (базовый иммунитет, PTI) и *Lus10022077* (специфичный иммунитет, ETI), представляют наибольший интерес для селекции, так как потенциально могут обладать комплексной, двухуровневой устойчивостью к пасмо.

## Заключение

Проведенный молекулярно-генетический анализ позволил выявить у сортов коллекции льна целевые фрагменты генов-кандидатов *Lus10003106* (RLK, PTI) и *Lus10022077* (NBS-LRR, ETI), потенциально связанных с устойчивостью льна *Linum usitatissimum* L. к пасмо, и оценить частоту встречаемости соответствующих генов у 46 сортов льна различного эколого-географического происхождения. Ген-кандидат *Lus10003106*, ассоциированный с PAMP-триггерным иммунитетом (PTI), выявлен преимущественно в группе сортов льна-долгунца, целевой фрагмент гена идентифицирован у 18 из 29 сортов, а частота его встречаемости составила 62,1%. В группе льна масличного данный локус не был обнаружен.

Ген-кандидат *Lus10022077*, ассоциированный с эффектор-индуцированным иммунитетом (ETI), характеризуется более широким распространением в изученной коллекции. Его частота встречаемости составила 55,2% (16 из 29 сортов) среди льна-долгунца и 64,7% (11 из 17 сортов) среди льна масличного.

В результате молекулярного скрининга выявлены генотипы, сочетающие в себе оба гена-кандидата *Lus10003106* и *Lus10022077*, что позволяет рассматривать их как потенциальные источники комплексной двухуровневой устойчивости (PTI+ETI). К таким генотипам относятся 13 сортов льна-долгунца: ‘А 29’, ‘Алексим’, ‘Атлант’, ‘Памяти Крепкова’, ‘‘Грант’’, ‘Тонус’, ‘Торжокский 4’, ‘Феникс’, ‘Квартет’, ‘Полёт’, ‘Добрыня’, ‘Томский 17’, ‘Томский 18’.

После экспериментальной валидации используемых молекулярных маркеров и подтверждения их связи с фенотипическим проявлением устойчивости к пасмо выявленные образцы могут рассматриваться как доноры устойчивости для использования их в селекционных программах, направленных на создание сортов с комплексной, двухуровневой устойчивостью к пасмо.

## References/Литература


Ali S., Tyagi A., Mir Z.A. Plant Immunity: At the crossroads of pathogen perception and defense response. *Plants*. 2024;13:1434. DOI: 10.3390/plants13111434

Akhmetshina A.O., Strygina K.V., Khlestkina E.K., Porokhovinova E.A., Brach N.B. High-throughput sequencing in flax genetics and breeding. *Ecological Genetics*. 2020;18(1):103-124. DOI: 10.17816/ecogen16126

Boller T., Felix G. A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annual Review of Plant Biology*. 2009;60:379-406. DOI: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105346

Chen S., Yuan H., Yang X., Chen L., Chen J., Liu Y., Wu L., Hu Y., Huang W., Yao Y., Wu J., Kang Q., Song X., Jiang W., Sheng W., Wu G. Identification and analysis of flax resistance genes to *Septoria Linicola* (Speg.) Garassini. *Journal of Natural Fibers*. 2023;20(1):2163331. DOI: 10.1080/15440478.2022.2163331

Chen S., Yuan H., Wu G. Yang X., Liu D., Chen L., Chen J., Liu Y., Yin W., Zhang L. Cloning and functional validation of the candidate gene *LuWRKY39* conferring resistance to *Septoria linicola* (Speg.) Garassini from Flax. *Agriculture*. 2025;15:1561. DOI: 10.3390/agriculture15141561

Dudchenko I.P., Schukovskaya A.G., Dudchenko G.N. Pasmo disease of flax. Biological method of identification of Septoria linicola. *Plant Health and Quarantine*. 2022;(2):25-38. [in Russian] (Дунченко И.П., Щуковская Г.Н., Дунченко Г.Н. Заболевание пасмо льна. Биологический метод идентификации *Septoria linicola*. *Фитосанитария. Карантин растений*. 2022;(2):25-38). DOI: 10.69536/k2355-2320-4825-k

He L., Xiao J., Rashid K.Y., Jia G., Li P., Yao Z., Wang X., Cloutier S., You F.M. Evaluation of genomic prediction for pasmo resistance in flax. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(2):359. DOI: 10.3390/ijms20020359

Jones J.D.G., Dangl J.L. The plant immune system. *Nature*. 2006;444(7117):323-329. DOI: 10.1038/nature05286

Kolotov A.P., Porokhovinova E.A. Characteristics of flax samples (*Linum usitatissimum* L.) from VIR collection studied in the Sverdlovsk Region. *The Bulletin of Izhevsk State Agricultural Academy*. 2025;(1):28-37. [in Russian] (Колотов А.П., Пороховинова Е.А. Характеристика изученных в Свердловской области образцов льна (*Linum usitatissimum* L.) из коллекции ВИР. *Вестник Ижевской государственной сельскохозяйственной академии*. 2025;(1):28-37). DOI: 10.48012/1817-5457_2025_1_28-37

Kudryavtseva L.P., Rozhmina T.A.. Flax genotypes with horizontal resistance to pasmo (septoria) for breeding purposes. *Agrarian science*. 2023;(5):78-82. 2023;370(5):78-82. [in Russian] (Кудрявцева Л.П., Рожмина Т.А. Генотипы льна с горизонтальной устойчивостью к пасмо (септориозу) для целей селекции. *Аграрная наука*. 2023;370(5):78-82). DOI: 10.32634/0869-8155-2023-370-5-78-82

Kutuzova S.N., Porokhovinova E.A., Pendinen G.I. Origin and evolution of *Linum usitatissimum* L. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2015;176(4):436-455. [in Russian] (Кутузова С.Н., Пороховинова Е.А., Пендинен Г.И. Происхождение и эволюция *Linum usitatissimum* L. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2015;176(4):436-455). DOI: 10.30901/2227-8834-2015-4-436-455

Porokhovinova E.A., Kutuzova S.N., Pavlov A.V., Buzovkina I.S., Brutch N.B. Diversity of flax morphological characters in VIR genetic collection as a result of crop domestication. *Ecological Genetics*. 2018;16(4):33-50. [in Russian] (Пороховинова Е.А., Кутузова С.Н., Павлов А.В., Бузовкина И.С., Брач Н.Б. Разнообразие морфологических признаков льна в генетической коллекции ВИР как результат его доместикации. *Экологическая генетика*. 2018;16(4):33-50). DOI: 10.17816/ecogen16433-50

Porokhovinova E.A., Kutuzova S.N., Pavlov A.V., Slobodkina A.A., Yakusheva T.V., Brutch N.B. Collection of flax genetic resources of the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources. *Letters to the Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;7(2):75-90. [in Russian] (Пороховинова Е.А., Кутузова С.Н., Павлов А.В., Слободкина А.А., Якушева Т.В., Брач Н.Б. Коллекция генетических ресурсов льна Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова. *Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;7(2):75-90). DOI: 10.18699/LettersVJ2021-7-09

Simagin A.D., Hanbabaeva O.E., Popchenko M. I., Kudryavtseva L.P. Assessment of the flax varieties resistance to fusarium wilt. *Bulliten KrasSAU*. 2023;(8):39-46. [in Russian] (Симагин А.Д., Ханбабаева О.Е., Попченко М.И., Кудрявцева Л.П. Оценка устойчивости сортообразцов льна-долгунца к фузариозному увяданию. *Вестник КрасГАУ*. 2023;(8):39-46). DOI: 10.36718/1819-4036-2023-8-39-46

State Register of varieties and hybrids of agricultural plants admitted for usage (National List): official publication. Moscow: Rosinformagrotech; 2024. [in Russian] (Государственный реестр сортов и гибридов сельскохозяйственных растений, допущенных к использованию: официальное издание. Москва: Росинформагротех; 2024). URL: https://gossortrf.ru/upload/iblock/00a/clri6obhudueqx6t1f6awcrsp6vm6psk.pdf [дата обращения: 20.03.2026].

You F.M., Jia G., Xiao J., Duguid S., Rashid K.Y., Booker H., Cloutier S. Genome-wide association study of pasmo resistance in flax (*Linum usitatissimum* L.). *Frontiers in Plant Science*. 2022;13:897456. DOI: 10.3389/fpls.2022.897456

Zipfel C. Plant pattern-recognition receptors. *Trends in Immunology*. 2014;35(7):345-351. DOI: 10.1016/j.it.2014.05.004

## *Информация об авторах*

**Анастасия Сергеевна Симагина,** аспирант, ассистент, кафедра генетики, селекции и семеноводства, Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, 127434 Россия, Москва, Тимирязевская ул., 49, klepikova.anastasi@yandex.ru, https://orcid.org/0009-0001-3759-9796
**Елена Александровна Вертикова,** доктор сельскохозяйственных наук, заведующая, кафедра генетики, селекции и семеноводства, доцент, Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, 127434 Россия, Москва, Тимирязевская ул., 49, vertikova@rgau-msha.ru; https://orcid.org/0000-0003-2457-7253

## *Information about the authors*

**Anastasia S. Simagina,** Postgraduate Student, Assistant, Department of Genetics, Breeding and Seed Production, Russian State Agrarian University – Moscow K.A. Timiryazev Agricultural Academy, 49, Timiryazevskaya Street, Moscow, 127434 Russia, klepikova.anastasi@yandex.ru, https://orcid.org/0009-0001-3759-9796
**Elena A. Vertikova,** Dr. Sci. (Agriculture), Head, Department of Genetics, Breeding and Seed Production, Associate Professor, Russian State Agrarian University – Moscow K.A. Timiryazev Agricultural Academy, 49, Timiryazevskaya Street, Moscow, 127434 Russia, vertikova@rgau-msha.ru; https://orcid.org/0000-0003-2457-7253

***Вклад авторов:*** А.С.С. – проведение молекулярно-генетического исследования, подготовка рукописи, анализ результатов. Е.А.В. – методологическое руководство молекулярно-генетическими исследованиями, руководство исследованиями, анализ результатов, подготовка рукописи.
***Contribution of the authors:*** A.S.S. – conducting of molecular genetic research, manuscript preparation, analysis of the results. E.A.V. – methodological guidance of molecular genetic studies, research supervision, analysis of the 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 03.04.2026; одобрена после рецензирования 30.04.2026; принята к публикации 28.06.2026.
The article was submitted on 03.04.2026; approved after reviewing on 30.04.2026; accepted for publication on 28.06.2026.

**Научная статья**
**УДК 635.655:631.547.1**
**DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o9**

(cc) BY

# Всхожесть семян сои после долгосрочного низкотемпературного хранения и последующего хранения в комнатных условиях

**И. В. Сеферова, Г. И. Филипенко, А. Ю. Некрасов, О. Н. Забегаева**

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

***Автор, ответственный за переписку:*** Галина Ивановна Филипенко, g.filipenko@vir.nw.ru

**Актуальность**. Семена сои *Glycine max* (L.) Merr. при хранении в комнатных неконтролируемых условиях влажности и температуры воздуха быстро утрачивают всхожесть. Это определяет необходимость использования специальных приемов для сохранения коллекционных образцов. Низкотемпературное хранение (НХ) в условиях низкой влажности окружающей среды позволяет значительно дольше поддерживать высокое качество семян, однако и в таком случае часть образцов может снижать всхожесть. Это делает актуальным исследование результатов многолетнего сохранения образцов сои в Генбанке ВИР. Кроме того, важно учитывать, что от момента выемки семян из низкотемпературных хранилищ до их посева в поле может проходить несколько месяцев хранения при комнатных условиях. В работе была поставлена задача оценить динамику изменения всхожести семян сои при низкотемпературном хранении и последующем хранении в комнатных условиях. **Материалы и методы.** Исследование было проведено на 290 образцах сои коллекции ВИР, происхождение которых охватывает практически весь ареал возделывания этой культуры. Репродукция образцов осуществлялась с 2000 по 2016 год на опытных станциях ВИР: Адлерской опытной станции, Кубанской опытной станции (Краснодарский край) и Дальневосточной опытной станции (Приморский край). Семена хранили в запаянных ламинированных пакетах из алюминиевой фольги при температуре –10°С. Выемка образцов из НХ выполнена весной 2022 года. Затем образцы хранились шесть месяцев в бумажных пакетах в комнатных условиях. Всхожесть семян определяли перед закладкой на хранение ($G_i$), сразу после выемки образцов из НХ ($G_1$) и после хранения в комнатных условиях ($G_2$). Оценивали индексы всхожести, рассчитанные по формулам: $GI_1=G_1/G_i$, для периода НХ и $GI_2=G_2/G_1$ после хранения в комнатных условиях. **Результаты.** Всхожесть семян на момент закладки ($G_i$) составляла от 12 до 100% (медианное значение 82,0%), всхожесть после НХ ($G_1$) – от 5 до 97% (64,5 %) и после хранения в комнате ($G_2$) от 0 до 100% (47,5%). $GI_1$ имел значения от 0,1 до 1,4 (медианное значение 0,78), а $GI_2$ от 0,0 до 1,68 (0,83). $GI_1$ и $GI_2$ не имеют связи с исходными значениями всхожести (коэффициенты корреляции r=0,14 и 0,16). По показателю $GI_1$ лучшие результаты хранения показали семена, выращенные на Дальневосточной опытной станции: 0,83 по сравнению с 0,79 для образцов с Адлерской станции и 0,69 для образцов с Кубанской станции. **Заключение.** При НХ в течение 6-22 лет при температуре –10°С и последующем хранении в комнатных условиях в течение шести месяцев медианные значения всхожести семян сои снизились на 17,5 и 17,0% соответственно. Степени изменения всхожести после НХ и хранения в комнатных условиях не связаны с исходными значениями всхожести. Разброс значений индексов всхожести после НХ ($GI_1$) и последующего хранения в комнатных условиях ($GI_2$) свидетельствует о том, что образцы сои различаются по реакции на хранение. Сведения о конкретных образцах могут быть использованы в дальнейшем в генетических исследованиях. Для оптимизации подготовки к посеву семян образцов после НХ рекомендуется сокращать период их хранения в комнатных условиях. Условия Дальневосточной опытной станции наиболее благоприятны для размножения образцов семян сои из коллекции ВИР с целью их последующего НХ.

***Ключевые слова*:** *Glycine max*, коллекция семян, сохранение генетических ресурсов растений, посевные качества семян

***Благодарности:*** работа выполнена в рамках реализации Программы развития Национального центра генетических ресурсов растений по соглашению с Минобрнауки России от 01.04.2026 г. № 075-02-2026-1649.

***Для цитирования:*** Сеферова И.В., Филипенко Г.И., Некрасов А.Ю., Забегаева О.Н. Всхожесть семян сои после низкотемпературного хранения и последующего хранения в комнатных условиях. *Биотехнология и селекция растений.* 2026;9(3):70-83. DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o9

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.

© Сеферова И.В., Филипенко Г.И., Некрасов А.Ю., Забегаева О.Н., 2026

**Original article**
**DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o9**

# Germination rate of soybean seeds after long-term low-temperature storage and subsequent storage under room conditions

**Irina V. Seferova, Galina I. Filipenko, Alexander Yu. Nekrasov, Olga N. Zabegaeva**

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

***Corresponding author:*** Galina I. Filipenko, g.filipenko@vir.nw.ru

**Background**. Soybean *Glycine max* (L.) Merr. seeds rapidly lose their germination ability when stored under uncontrolled room temperature and humidity conditions. This necessitates the use of special techniques to preserve accessions of the collection. Low temperature storage (LTS) under conditions of low ambient humidity allows for the maintenance of high seed germination rate, however even in these conditions some accessions reduce their ability to germinate, which makes it relevant to assess the results of long-term preservation of soybean accessions in the VIR Genebank. Furthermore, it should be kept in mind that several months of storage under room conditions may elapse between their removal from long-term storage (LTS) and sowing within the next reproduction cycle. Our goal was to evaluate the change in germination over this storage interval. **Materials and methods.** The study was conducted on 290 soybean accessions from the VIR collection, originating from virtually the entire cultivation area of the crop. The reproduction of accessions was carried out from 2000 to 2016 at VIR experiment stations: the Adler Experiment Station, the Kuban Experiment Station (Krasnodar Region), and the Far East Experiment Station (Primorsky Region). The seeds were stored in sealed foil laminated bags at –10°C. The accessions were removed from LTS and germination (Gi) assessed in 2022. After six months of storage under room conditions, germination ($G_2$) was evaluated again. The retention of germination ability was expressed as the germination index (GI), namely $GI_1=G_1/G_i$ for LTS, and $GI_2=G_2/G_1$ for storage under room conditions. **Results.** At the start of LTS, seed germination ($G_i$) ranged from 12% to 100% (median 82.0%), whereas after LTS (G1) it ranged from 5% to 97% (median 64.5%), and after storage under room conditions (G2) – from 0% to 100% (47.5%). $GI_1$ ranged from 0.1 to 1.4 (median 0.78) and $GI_2$ from 0.0 to 1.68 (0.83). $GI_1$ and $GI_2$ do not have a strong relationship with $G_i$ (correlation coefficients r=0.14 and 0.16). According to the $GI_1$ indicator, the best storage results were demonstrated by seeds grown at the Far East Experiment Station (0.83), compared to 0.79 for specimens from the Adler Station and 0.69 for specimens from the Kuban Station. **Conclusion**. After 6-22 years of LTS at –10°C and subsequent six months of storage under room conditions, median soybean seed germination values decreased by 17.5% and 17.0%, respectively. The degree of change in germination after both LTS and room storage was weakly related to the initial germination value. The spread of germination index values after LTS ($GI_1$) and subsequent room storage ($GI_2$) indicates that soybean accessions vary in their response to storage. Data obtained on specific accessions can be used in future genetic research. To optimize seeding techniques for specimens after LTS, it is recommended to shorten the seed storage period at room temperature before sowing. The conditions of the Far East Experiment Station are most suitable for the reproduction of soybean seed accessions from the VIR collection for subsequent LTS.

***Keywords***: *Glycine max*, seed collection, conservation of plant genetic resources, seed sowing qualities

***Acknowledgements:*** The work was carried out as part of the implementation of the Development Program of the National Center for Plant Genetic Resources under the agreement No. 075-02-2026-1649 with the Ministry of Education and Science of Russia dated 01.04.2026.

***For citation:*** Seferova I.V., Filipenko G.I., Nekrasov A.Yu., Zabegaeva O.N. Germination rate of soybean seeds after low-temperature storage and subsequent storage under room conditions. *Plant Biotechnology and Breeding.* 2026;9(3):70-83. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o9

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.

© Seferova I.V., Filipenko G.I., Nekrasov A.Yu., Zabegaeva O.N., 2026

## Введение

Семена сои, по опыту кураторов коллекции ВИР, при хранении в помещении в неконтролируемых условиях утрачивают всхожесть за три-пять, в редких случаях восемь лет (Vishnyakova et al., 2018). Имеется много наблюдений по длительности хранения семян сои при положительных температурах. На семенах двух сортов сои, 'Beck 361' и 'Beck 201, сохраняемых в неотапливаемых складах в двух пунктах наблюдения, в городах Лексингтон штата Кентукки, США и Атланта штата Джорджия, США, было показано, что в первые 1,5 года после получения урожая всхожесть практически не менялась, а в последующие шесть месяцев снижалась, но не одинаково у разных сортов: от пяти до 30% (Fabrizius et al., 1999). В первый год хранения всхожесть может сохраняться на высоком уровне, а затем снижение всхожести становится более выраженным (Shelar et al., 2008). При исходной всхожести около 85%, влажности семян от 11,2 до 12,8% и хранении при температуре 20°C через шесть месяцев всхожесть снижалась примерно на 20% (De Alencar, Faroni, 2011). Отмечены случаи хорошего сохранения всхожести в меняющихся условиях. Семена четырех сортов сои: 'Соната', 'Лидия', 'Даурия', 'Гармония', выращенных в Дальневосточном регионе РФ, хранили в неотапливаемом складе, где температура варьировала от +35°C до –33°C, а влажность воздуха составляла 60-70%. В этих условиях за два года всхожесть снизилась на 1-5%, а за три года на 7-13% от исходной (Vyskvarka, 2013). Семена семи сортов сои с исходной всхожестью от 82 до 96% при хранении в неконтролируемых комнатных условиях снизили всхожесть за шесть месяцев на 15-20% (Singh et al., 2024). Сравнение всхожести семян 11 сортов сои после хранения в течение 12 месяцев при 18-22°C и 2-6°C показало более высокие значения всхожести после хранения при низких положительных температурах. Хранение семян при 18-22°C привело к варьированию всхожести от 39,3 до 57,1%, а при 2-6°C – от 63,7 до 76,7%. (Koskosidis et al., 2022). Примерно через два года хранения семян при 22°C всхожесть семян сои снизилась на 50% (Manjari et al., 2026). В целом можно сказать, что способность семян сои сохранять всхожесть, в том числе всхожесть в комнатных условиях, в значительной степени определяется генотипическими факторами. На эту способность влияет как исходное качество семян, так и их влажность, а также температура воздуха в помещении хранения.

Сохранение семян при отрицательных температурах уже давно является международным стандартом (Genebank Standards…, 2014). Семена сои относят к ортодоксальному типу, что позволяет сохранять их длительное время при пониженной влажности и низких температурах (Pritchard, Dickie, 2003; Solberg et al., 2020). Однако и в этих условиях неизбежно происходит старение семян и снижение их всхожести (Solberg et al., 2020).

При хранении образцов сои, имеющих близкую к 100% начальную всхожесть, при –18°C в течение 25,5 лет и при –20°C в течение 30 лет всхожесть сохранялась, в среднем, на уровне 85% (Desheva et al., 2017; Kiran Babu et al., 2018). Наши результаты показали, что в Генбанке ВИР при температуре –10°C и влажности семян 5,1-6,6%, за период от четырех до 20 лет из образцов сои с высокой начальной всхожестью >85%, всхожесть на таком уровне сохранили только 36% образцов (Seferova et al., 2024). Поскольку точные сроки сохранения высокой всхожести семенами сои, период безопасного хранения, при низкотемпературном хранении (НХ) еще не установлены, большой интерес представляет определение всхожести семян сои после длительного хранения в условиях низких температур. Кроме того, нами не обнаружено исследований, в ходе которых было бы установлено то, как меняются посевные качества семян сои в период после извлечения из низкотемпературных хранилищ до пересева или иного использования. Этот этап работы по сохранению генетических ресурсов растений до сих пор практически не изучен. Между тем, именно на этом этапе может произойти потеря ценного генетического материала, долгое время достаточно успешно сохранявшегося в условиях низких температур. Поэтому была поставлена задача оценить динамику изменения всхожести семян сои в результате низкотемпературного хранения и хранения в комнатных условиях после извлечения семян из низкотемпературных хранилищ.

## Материалы и методы

Работа выполнялась в Генном банке ВИР в Санкт-Петербурге и в отделе генетических ресурсов зернобобовых культур (ГР ЗБК) ВИР с использованием семенных репродукций образцов, выращенных с 2000 по 2016 год на трех опытных станциях ВИР – Адлерской (Адл. ОС), Кубанской (К ОС, Краснодарский край) и Дальневосточной (ДВ ОС, Приморский край). Использовано 290 образцов сои коллекции ВИР. По географическому происхождению образцы относятся к 31 стране, что соответствует большей части ареала культуры. В изученном наборе больше всего образцов из Китая (51 образец), США (47), Канады (34). Для исследования было отобрано по 10-30 образцов из Молдовы, Республики Корея, России, Франции, Чехословакии, Японии, по 3-9 – из Алжира, Болгарии, Венгрии, Украины, по 1-2 – из Австралии, Аргентины, Бельгии, Бразилии, Германии, Италии, КНДР, Колумбии, Литвы, Нидерландов, Польши, Португалии, Румынии, Сирии, Узбекистана, Филиппин, Швеции, Югославии. По времени поступления в коллекцию ВИР образцы относятся к периоду от 1921 до 2017 года. По массе 1000 семян проанализированные образцы варьируют от 60 до 440 г. Представлены все варианты окраски семенной кожуры: желтая, зеленая, коричневая, черная, с преобладанием вариантов с желтой окраской. По срокам созревания имеются все варианты, вызревающие на использованных опытных станциях ВИР: от скороспе-

лых, с продолжительностью периода всходы-созревание 81-90 дней, до позднеспелых, требующих для созревания более 150 дней. Образцы, не созревшие за 150 дней, были оставлены для дозревания в снопах под навесом.

Подготовка образцов семян к закладке на низкотемпературное хранение (НХ) и последующая их выемка были проведены в соответствии с действовавшими Стандартами (Genebank Standards…, 1994; Genebank Standards…, 2014): образцы подсушивали в сушилке при температуре 20°С и относительной влажности воздуха 12% до равновесной влажности семян, которая колебалась от 5,1 до 6,6%, попадая в интервал влажности семян 3-7%, рекомендованный стандартами для закладки на низкотемпературное хранение. Всхожесть семян сои определяли проращиванием в рулонах из фильтровальной бумаги в термостате при температуре 30°С днем и 20°С ночью. Ко всхожим относили нормально проросшие семена, имеющие развитый главный зародышевый корешок размером более длины семени и сформировавшийся росток с семядолями и хорошо развитым неповрежденным гипокотилем. Подсчеты проросших семян осуществляли на третьи и седьмые сутки проращивания (GOST 12038-84, 2011). Определение всхожести проводили в 2-х повторностях. Влажность семян сои определяли по потере влаги навеской размолотых семян в результате подсушивания при температуре 130°С в течение 40 минут, выражая ее в процентах от массы взятой навески (GOST 12041-82, 2011). Семена хранили в ламинированных герметичных пакетах из фольги в низкотемпературном хранилище (объем 315 м куб.) при температуре –10±2°С. Влажность воздуха в хранилище не регулируется и колеблется на уровне 60±5%. Выемка образцов из НХ была выполнена весной 2022 года. После выемки пакеты с образцами сои оставляли невскрытыми при комнатной температуре на сутки, чтобы дать семенам прогреться и предотвратить их увлажнение при контакте с теплым лабораторным воздухом. Затем образцы семян хранили шесть месяцев в бумажных пакетах в комнатных условиях при температуре 17-25°С и влажности 40-60%. Использованные в опыте образцы находились на среднесрочном, а не длительном хранении. В Генбанке ВИР на среднесрочное хранение допустимо сдавать семена зерновых бобовых культур даже с пониженными показателями лабораторной всхожести и энергии прорастания (Vishnyakova et al., 2018). Поскольку среднесрочное хранение при низких температурах позволяет сохранить до пересева семена, которые потеряли бы всхожесть при хранении в комнатных условиях, рекомендовано использовать их в посевах несколько лет для гарантированного восстановления всхожести. Для оценки изменения всхожести семян в процессе хранения, было использовано отношение последующей всхожести к предыдущей. Это отношение было названо «индекс всхожести» GI (от англ. germination index). Этот показатель позволяет охарактеризовать степень изменения всхожести, независимо от ее исходных значений.

Индексы всхожести рассчитывали по формулам:

$GI_1=G_1/G_i$;

$GI_2=G_2/G_1$, где

$GI_1$ – индекс всхожести, определяемый в период низкотемпературного хранения;

$GI_2$ – индекс всхожести в период хранения в комнатных условиях;

$G_i$ – исходная всхожесть образцов на момент закладки на НХ;

$G_1$ – всхожесть после НХ;

$G_2$ – всхожесть после хранения в комнатных условиях.

Кроме того, для более детальной оценки влияния начальной всхожести на степень изменения всхожести, весь набор данных для каждого из этапов хранения был разделен на группы по всхожести: до 61%, от 61 до 85% и равной или более 85%. Рубеж в 85% был выбран исходя из рекомендаций ФАО (Genebank Standards …, 2014) не использовать для НХ образцы со всхожестью меньше 85%. На практике это требование применяют обычно к образцам базовых коллекций, закладываемым на длительное хранение, для среднесрочного хранения активных коллекций требования не столь строги. Рубеж в 60% позволил иметь набор с низкой начальной всхожестью, численностью в 30 образцов, что дало возможность получить достоверные статистические характеристики.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием критериев t Стьюдента для сравнения выборок, имеющих нормальное распределение, и U Манна-Уитни для случаев, когда одна или обе сравниваемые выборки не подчиняются нормальному распределению. Нормальность распределения проверена с помощью критерия Шапиро-Уилка. Корреляции рассчитаны по Спирмену. В исследовании принят уровень значимости 5%. Выполнен факторный анализ по методу главных компонент. Рассчитана матрица факторных нагрузок, в которую занесены значения всхожести до НХ, после НХ и после хранения семян при комнатной температуре, а также рассчитанные индексы всхожести. Обработку данных проводили в программе Excel 2016 и Statistica 7.0.

## Результаты

На момент закладки на низкотемпературное хранение (НХ) всхожесть образцов всего набора составляла по медианному значению 82% (min 12%, max 100%). Распределение отличалось от нормального, с выраженной отрицательной асимметрией (Skewness = –1,28) и сильным эксцессом (Kurtosis =2,74) (табл. 1, рис. 1а). Представленность в материале образцов преимущественно с высокой всхожестью определялась как естественным состоянием всхожести в репродукциях, так и преднамеренным отбором образцов с высокой всхожестью для НХ.

**Таблица 1. Статистические характеристики значений всхожести и индексов всхожести на трех этапах изучения**

**Table 1. Statistical characteristics of germination values and germination indices at three stages of the experiment**

| Оцени-ваемый параметр/ Estimated parameter | Группи-рующий параметр/ Grouping parameter | Интервал группи-рующего параметра/ Grouping parameter interval | Число образцов, шт./ Number of accessions, pcs | Медиана/ Median | Мини-мальное значение/ Minimum value | Макси-мальное значение/ Maximum value | Верхний квартиль/ Upper quartile | Нижний квартиль/ Lower quartile | Коэффициент асимметрии/ Skewness | Коэффи-циент эксцесса/ Kurtosis | Критерий Шапиро-Вилка, p*/ Shapiro-Wilk test, p* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $G_i$, % | | | 290 | 82,00 | 12,00 | 100,0 | 72,00 | 92,00 | -1,28 | 2,74 | p=,000 |
| $G_1$, % | | | | 64,50 | 5,00 | 97,00 | 44,00 | 77,00 | -0,59 | -0,50 | p=,000 |
| $G_2$, % | | | | 47,50 | 0,00 | 100,0 | 24,00 | 68,00 | -0,01 | -1,08 | p=,000 |
| $GI_1$ | $G_i$, | все | 290 | 0,78 | 0,10 | 1,37 | 0,60 | 0,92 | -0,51 | 0,08 | p=,000 |
| | | ≤60% | 30 | 0,64 | 0,11 | 1,15 | 0,35 | 0,82 | 0,21 | -1,02 | **p=,142** |
| | | >60; <85% | 165 | 0,77 | 0,10 | 1,37 | 0,57 | 0,93 | -0,35 | 0,38 | p=,038 |
| | | ≥85% | 95 | 0,81 | 0,36 | 1,01 | 0,72 | 0,88 | -0,81 | 0,56 | p=,002 |
| $GI_2$ | $G_1$ | все | 290 | 0,83 | 0,00 | 1,68 | 0,55 | 1,00 | -0,23 | -0,19 | p=,002 |
| | | ≤60% | 128 | 0,76 | 0,00 | 1,68 | 0,43 | 0,69 | 0,02 | -0,45 | **p=,078** |
| | | >60; <85% | 126 | 0,87 | 0,00 | 1,27 | 0,77 | 0,93 | -0,66 | -0,44 | p=,000 |
| | | ≥85% | 36 | 0,82 | 0,18 | 1,16 | 0,91 | 1,04 | -0,66 | -0,23 | **p=,113** |

*p –статистическая значимость; подчеркнуты значения критерия, подтверждающие нормальность распределения/ p-value; the test values confirming the normality of the distribution are underlined

После НХ медианное значение всхожести составляло 64,5% (min=5%, max=97%). Распределение по-прежнему не соответствовало критерию нормального, но асимметрия и эксцесс стали меньше, чем при закладке на НХ (As= –0,59; Ek= –0,50) (см. табл. 1, рис. 1b). После хранения в комнатных условиях распределение значений всхожести было плосковершинным, со смещением к меньшим значениям. Медианное значение составляло 47,5% (min=0%, max=100%). Асимметрия стала минимальной, а эксцесс явно отрицательным (As=0,00; Ek= –1,08) (см. табл. 1, рис. 1c). Сравнение значений всхожести между тремя этапами проверки по U-критерию Манна-Уитни показало достоверную разницу между ними.

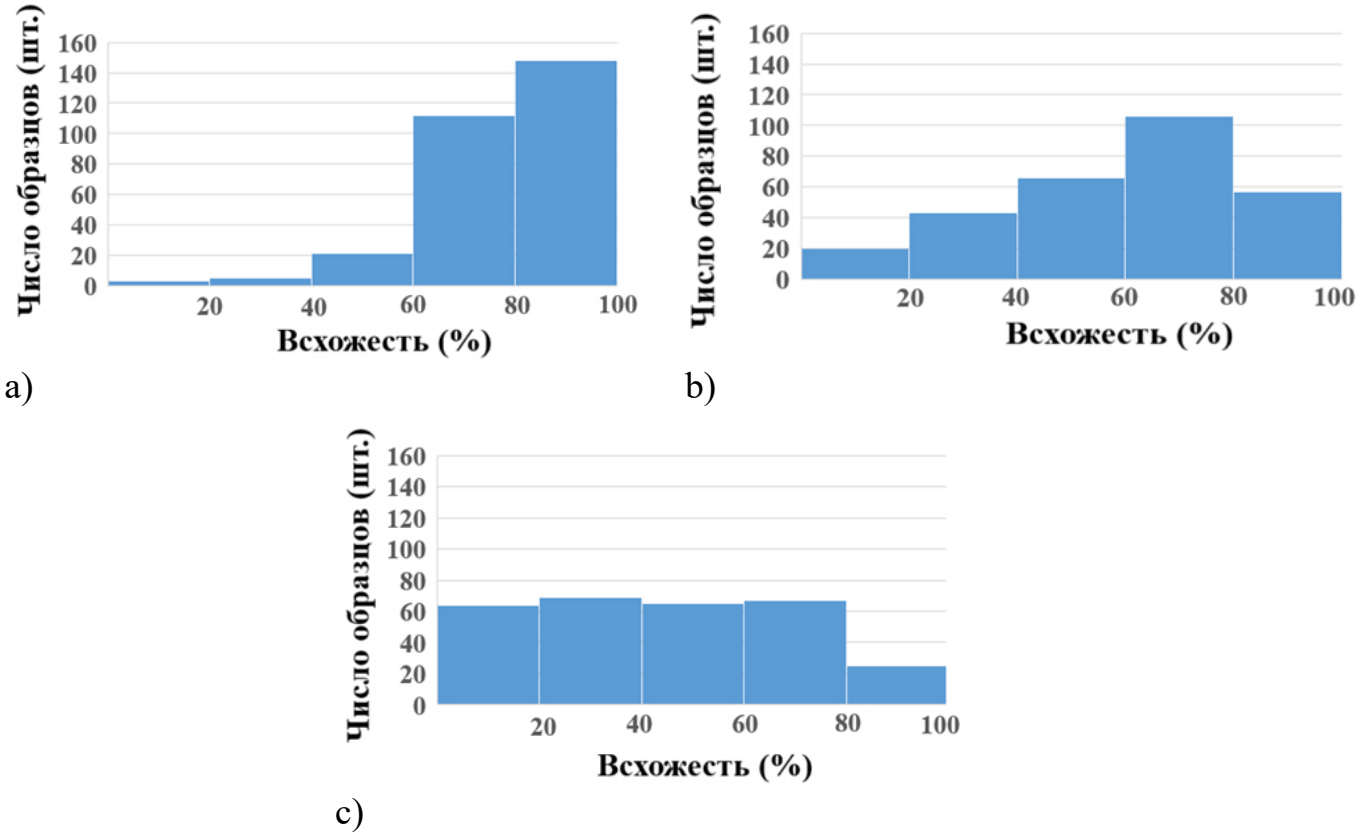



**Рис. 1. Всхожесть образцов сои**

a) – на момент закладки на длительное низкотемпературное хранение (НХ), b) – после НХ, c) – после хранения в комнатных условиях в течение шести месяцев после НХ

**Fig. 1. Germination of soybean accessions**

a) – at placing for long-term low-temperature storage (LTS), b) – after LTS, c) – after storage under room conditions for six months after LTS

Медианное значение всхожести за время НХ уменьшилось на 17,5%, при хранении в комнатных условиях еще на 17%, а за все время наблюдения – на 34,5% (см. табл. 1). При этом полностью (до 0,0%) утратили всхожесть девять образцов, имевших исходную всхожесть от 46 до 88%.

Для оценки изменения всхожести независимо от значений всхожести на начало периода был использован индекс изменения всхожести. Для всего набора образцов медианное значение индексов всхожести $GI_1$ и $GI_2$ составляло, соответственно, 0,78 и 0,83 (см. табл. 1, рис. 2). Как для $GI_1$, так и для $GI_2$, весь межквартильный интервал находился ниже единицы, что указывает на явно преобладающее снижение всхожести семян на обоих этапах опыта.

Была выполнена проверка наличия разницы в изменении всхожести в зависимости от исходной всхожести для каждого из двух этапов исследования. Весь набор данных для каждого из этапов делили на группы со всхожестью ≤60%, от 61 до 85% и ≥85%.

По медианным значениям $GI_1$ в выделенных группах видно, что после НХ образцы, имевшие более высокую начальную всхожесть, имели больший $GI_1$, то есть сохраняли всхожесть лучше, а для периода хранения в комна-

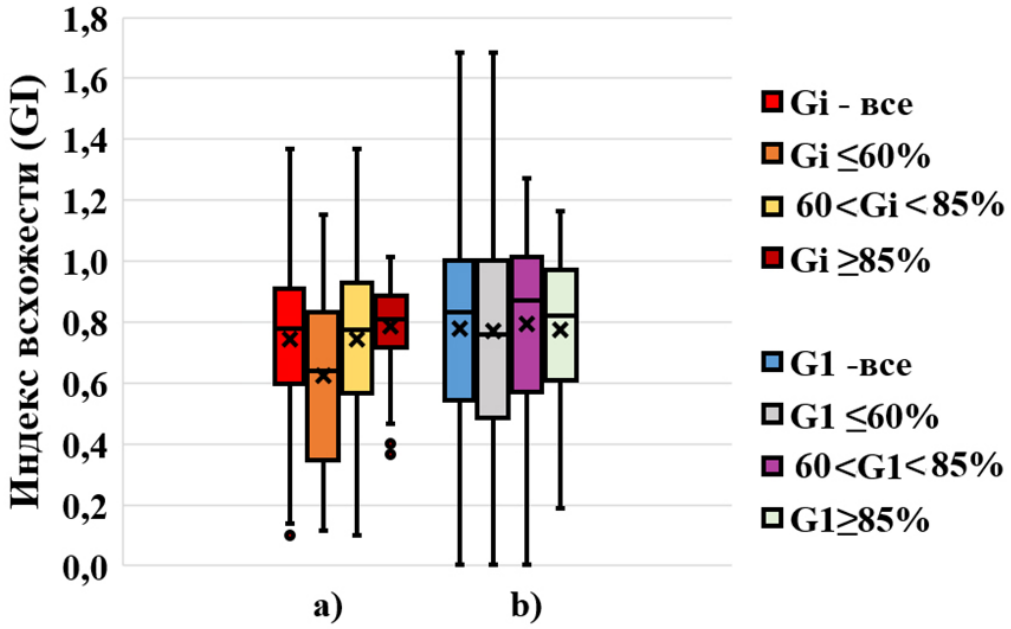



**Рис. 2. Диаграммы значений индексов всхожести образцов сои ($GI_1$ и $GI_2$) при разных значениях $G_i$ и $G_1$**
a) $GI_1$ – после низкотемпературного хранения (НХ), b) $GI_2$ – после хранения в комнатных условиях в течение шести месяцев после НХ. Показаны максимальные и минимальные значения, границы верхнего и нижнего квартилей, медианные (горизонтальная линия) и средние (крестик) значения, выбросы

**Fig. 2. Box plots of germination indices ($GI_1$ and $GI_2$) for soybean accessions at different values of $G_i$ and $G_1$**
a) $GI_1$ – after long-term low-temperature storage (LTS), b) $GI_2$ – after storage under room conditions for six months after LTS. The max., min. values, boundaries of the upper and lower quartiles, the median (horizontal line) and mean (cross) values, and the outlier are presented.

те разница между $GI_2$ образцов, имевших разную $G_1$, была не так явно выражена (см. табл. 1, см. рис. 2). При этом разброс значений как $GI_1$, так и $GI_2$ был очень большим, а распределение значений сравниваемых выборок являлось как нормальным, так и не соответствующим нормальному.

Показано, что после НХ значения $GI_1$ при низких значениях $G_i$ (≤60%) достоверно отличаются от значений $GI_1$ при средних (от 61 до 85%) и высоких (≥85%) значениях $G_i$. При разных значениях $G_1$ значения $GI_2$ не отличаются достоверно между собой. Таким образом, изменение всхожести семян после их хранения в комнате не различалось достоверно при разных значениях всхожести после НХ (табл. 2).

**Таблица 2. Проверка достоверности различий значений $GI_1$ при разных значениях $G_i$ и значений $GI_2$ при разных значениях $G_1$**

**Table 2. Validation of differences in $GI_1$ values at different $G_i$ values, and $GI_2$ values at different $G_1$ values**

| Оцениваемый параметр/ Estimated parameter | Группирующий параметр/ Grouping parameter | Интервал группирующего параметра/ Grouping parameter interval | | Медианное значение оцениваемого параметра/ Median value of the Estimated parameter | | U-критерий Манна-Уитни, p * /Mann-Whitney U test, p * |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Группа 1/ Group 1 | Группа 2/ Group 2 | Группа 1/ Group 1 | Группа 2/ Group 2 | |
| $GI_1$ | $G_i$, % | ≤60 | >60; <85% | 0,64 | 0,77 | **0,039** |
| | | ≤60 | ≥85 | 0,64 | 0,81 | **0,002** |
| | | >60; <85% | ≥85 | 0,77 | 0,81 | 0,380 |
| $GI_2$ | $G_1$, % | ≤60 | >60; <85% | 0,76 | 0,87 | 0,316 |
| | | ≤60 | ≥85 | 0,76 | 0,82 | 0,770 |
| | | >60; <85% | ≥85 | 0,87 | 0,82 | 0,460 |

*p – статистическая значимость; подчеркнуты значения критерия, подтверждающие достоверность различий/ p-value; the test values which confirm the validity of the differences are underlined

Влияние исходной всхожести на силу снижения всхожести оценено расчетом корреляций (табл. 3). Связи $G_i$, $G_1$, $G_2$ были достоверными и выраженными: коэффициенты корреляции от r=0,50 до 0,61. Это является прямым следствием того, что последующее значение всхожести формируется из предыдущего через изменение всхожести. Но степень этого изменения не имеет сильной связи с исходным значением всхожести. Это подтверждается и тем, что корреляция $GI_1$ с $G_i$ была достоверной, положительной (r=0,16), но очень слабой, а с $G_1$ положительной и сильной (r=0,83), то есть значение всхожести в момент закладки на НХ не влияло на изменение всхожести за период НХ. Корреляция $GI_2$ с $G_1$ отсутствовала (r=0,03), а $GI_2$ с $G_2$ являлась положительной и достаточно сильной (r=0,70). Таким образом, изменение всхожести при хранении в комнатных условиях не имело зависимости от всхожести после НХ.

**Таблица 3. Корреляции значений всхожести ($G_i$, $G_1$, $G_2$) и индексов всхожести ($GI_1$ и $GI_2$)**

**Table 3. Correlations of germination values ($G_i$, $G_1$, $G_2$) and germination indices ($GI_1$ and $GI_2$)**

| Параметр/ Parameter | $G_i$, % | $G_1$, % | $G_2$, % | $GI_1$ | $GI_2$ |
|---|---|---|---|---|---|
| $G_i$, % | x | **0,61*** | **0,50** | **0,16** | **0,14** |
| $G_1$, % | **0,61** | x | **0,65** | **0,83** | 0,03 |
| $G_2$, % | **0,50** | **0,65** | x | **0,50** | **0,70** |
| $GI_1$ | **0,16** | **0,83** | **0,50** | x | -0,05 |
| $GI_2$ | **0,14** | 0,03 | **0,70** | -0,05 | x |

* Подчеркнуты значения достоверных корреляций/ Significant correlation values are underlined

Для выяснения влияния места репродукции образцов на их способность сохранять всхожесть был проведен анализ результатов хранения семян, с учетом места получения семян (табл. 4).

**Таблица 4. Статистические характеристики значений всхожести и индексов всхожести для семян, репродуцированных на разных опытных станциях**

**Table 4. Statistical characteristics of germination values and germination indices for seeds reproduced at different experiment stations**

| Оцениваемый параметр/ Estimated parameter | Опытная станция/ Experiment Station | Число образцов, шт./ Number of accessions, pcs | Медиана/ Median | Минимальное значение/ Min. value | Максимальное значение/ Max. value | Критерий Шапиро-Уилка, p*/ Shapiro-Wilk test, p* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| $G_i$, % | Адл. ОС | 79 | 82,00 | 12,00 | 100,00 | p=,000 |
| | ДВ ОС | 103 | 84,00 | 60,00 | 100,00 | p=,000 |
| | К ОС | 108 | 73,50 | 16,00 | 100,00 | p=,000 |
| $G_1$, % | Адл. ОС | 79 | 64,00 | 5,00 | 93,00 | p=,004 |
| | ДВ ОС | 103 | 71,00 | 21,00 | 97,00 | p=,019 |
| | К ОС | 108 | 48,00 | 5,00 | 90,00 | p=,009 |
| $G_2$, % | Адл. ОС | 79 | 40,00 | 0,00 | 96,00 | p=,004 |
| | ДВ ОС | 103 | 64,00 | 4,00 | 100,00 | p=,005 |
| | К ОС | 108 | 32,00 | 0,00 | 92,00 | p=,000 |
| $GI_1$ | Адл. ОС | 79 | 0,79 | 0,10 | 1,26 | **p=,288** |
| | ДВ ОС | 103 | 0,83 | 0,26 | 1,37 | **p=,073** |
| | К ОС | 108 | 0,69 | 0,11 | 1,15 | p=,045 |
| $GI_2$ | Адл. ОС | 79 | 0,76 | 0,00 | 1,51 | **p=,074** |
| | ДВ ОС | 103 | 0,91 | 0,06 | 1,68 | p=,006 |
| | К ОС | 108 | 0,74 | 0,00 | 1,63 | **p=,386** |

* p –статистическая значимость; подчеркнуты значения критерия, подтверждающие нормальность распределения/ p-value; the test values confirming the normality of the distribution are underlined

Видно, что по медианным значениям более высокие значения всхожести после первого и второго этапов хранения имели наборы образцов, репродуцированных на ДВ ОС. Семена с этой же станции характеризовались и более высокими значениями индекса всхожести на обоих этапах хранения.

Учитывая, что распределение значений индексов всхожести в одних случаях соответствовало, а в других – не соответствовало нормальному распределению, для проверки достоверности их различий использовали как U-критерий Манна-Уитни, так и t-критерий Стьюдента.

Для периода НХ по медианным значениям $GI_1$ наборы образцов, репродуцированные на разных станциях, ранжируются следующим образом: ДВ ОС (0,83), Адл. ОС (0,79), К ОС (0,69). При этом набор образцов с К ОС достоверно хуже сохраняет всхожесть, по сравнению с наборами с ДВ ОС и Адл. ОС, а значения для ДВ ОС и Адл. ОС достоверно не различаются. Для периода хранения в комнатных условиях по значениям $GI_2$ наборы образцов распределились в той же последовательности: ДВ ОС (0,91), Адл. ОС (0,76), К ОС (0,74). Значения для ДВ ОС были достоверно выше, чем для Адл. ОС и К ОС, а между Адл. ОС и К ОС достоверно не различались (табл. 5).

**Таблица 5. Проверка достоверности различий значений $GI_1$ и $GI_2$ для семян, репродуцированных на разных опытных станциях**

**Table 5. Validation of differences in $GI_1$ values and $GI_2$ values for seeds reproduced at different experiment stations**

| Оцениваемый параметр/ Estimated parameter | Опытная станция/ Experiment Station | | Медианное значение оцениваемого параметра/ Median value of the estimated parameter | | U-критерий Манна-Уитни, p*/ Mann-Whitney U-test, p* | t-критерий Стьюдента, p */ Student's t-test, p * |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Группа 1/ Group 1 | Группа 2/ Group 2 | Группа 1/ Group 1 | Группа 2/ Group 2 | | |
| $GI_1$ | Адл. ОС | ДВ ОС | 0,79 | 0,83 | **0,027** | 0,138 |
| | Адл. ОС | К ОС | 0,79 | 0,69 | **0,007** | **0,005** |
| | ДВ ОС | К ОС | 0,83 | 0,69 | **0,000** | **0,000** |
| $GI_2$ | Адл. ОС | ДВ ОС | 0,76 | 0,91 | **0,006** | **0,003** |
| | Адл. ОС | К ОС | 0,76 | 0,74 | 0,791 | 0,983 |
| | ДВ ОС | К ОС | 0,91 | 0,74 | **0,002** | **0,001** |

* p – статистическая значимость; подчеркнуты значения критерия, подтверждающие достоверность различий/ p-value; the test values which confirm the validity of the differences are underlined

Факторный анализ наглядно показал разделение образцов в зависимости от места репродукции семян. Больший вес в факторе 1 имели показатели $G_i$, $G_1$, $G_2$, $GI_1$, то есть этот фактор больше связан с результатами НХ. Фактор 2 сильно связан с $GI_2$ и, соответственно, характеризует результаты хранения в комнатных условиях (табл. 6).

**Таблица 6. Факторные нагрузки значений всхожести семян**

**Table 6. Factor loadings of seed germination indicators**

| Параметр/ Parameter | Фактор 1/ Factor 1 | Фактор 2/ Factor 2 |
|---|---|---|
| $G_i$, % | **0,688** | -0,039 |
| $G_1$, % | **0,930** | -0,353 |
| $G_2$, % | **0,884** | 0,417 |
| $GI_1$ | **0,756** | -0,428 |
| $GI_2$ | 0,337 | **0,921** |
| Expl. Var.* | 2,807 | 1,331 |
| Prp.Totl** | 0,561 | 0,266 |

* Explained Variance – объясненная дисперсия;
** Proportion of Total – общая доля объясненной дисперсии

На рисунке 3 видно, что распределение образцов с Адл. ОС и К ОС практически идентично. Образцы из этих групп распределены равномерно по всему полю, то есть в них есть как хорошо, так и плохо хранящиеся семена. Образцы с ДВ ОС смещены к большим значениям по фактору 1. По фактору 2 различия между станциями практически не выражены. Это наглядно показывает лучшее качество семян, полученных на ДВ ОС для НХ и слабую разницу между группами образцов при последующем хранении в комнатных условиях.

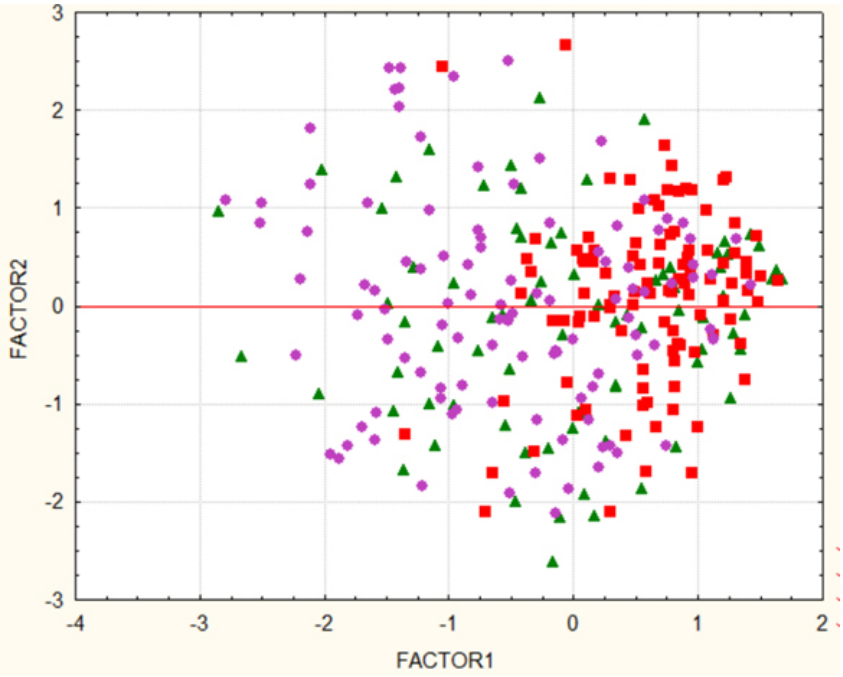



**Рис. 3. Распределение образцов, репродуцированных на трех опытных станциях в координатах двух факторов**

Условные обозначения: - Адл. ОС, - ДВ ОС, - К ОС

**Fig. 3. Distribution of accessions reproduced at three experiment stations in coordinates of two factors**

Designations: - Adl. Exp. St., - DV Exp. St., - K Exp. St.
Adl. Exp. St. – Adler Experiment Station; DV Exp. St. – Far East Experiment Station;
K Exp. St. – Kuban Experiment Station
Факторы 1 и 2 – рассчитанные факторы, которые представляют собой основную часть общей дисперсии (83%) значений всхожести до НХ, после НХ и после хранения семян при комнатной температуре, а также рассчитанных индексов всхожести/ Factors 1 and 2 – calculated factors that account for the major part of the total variance (83%) of germination values – before, after LTS and after seed storage at room temperature – as well as of the calculated germination indices

Из 290 включенных в опыт образцов, 22 образца не снизили всхожесть в результате НХ и последующего хранения в комнатных условиях. Семена этих образцов были получены в разные годы на разных опытных станциях и имели разную исходную всхожесть. Информация об этих образцах приведена в таблице 7.

## Обсуждение

Степень снижения всхожести образцов сои при различных условиях хранения свидетельствует о различиях в качестве семян. Более качественные семена обычно лучше всего поддаются хранению. Качество семян может быть связано с условиями репродукции (Seferova et al., 2024), генетически обусловленными свойствами, такими как крупность семян: лучше сохраняют всхожесть более мелкие семена сои (Singh et al., 2024). Разнокачественность семян в пределах одного материнского растения может возникать вследствие различия в расположении на нем формирующихся плодов и семян (Bukharov, 2020). Современные методы молекулярной генетики позволили приблизиться к выяснению генетических различий между формами растений, характеризующихся хорошим и плохим сохранением всхожести семян. Стало возможным выяснить связь между участками генома и определенными физическими, химическими и физиологическими характеристиками семян (Arif et al., 2022). Развитие данного направления замедляется вследствие необходи-

**Таблица 7. Образцы сои, не снизившие всхожесть семян после низкотемпературного хранения и последующего хранения в комнатных условиях**

**Table 7. Soybean accessions that did not show reduced seed germination after low-temperature storage followed by storage at room temperature**

| Номер каталога ВИР / VIR catalogue No. | Название образца / Accession name | Источник / Source | Опытная станция – место репродукции / Experiment Station –place of reproduction | Год репродукции / Year of reproduction | Всхожесть, % / Germination rate, % | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | $G_i$ | $G_1$ | $G_2$ |
| 60 | Wu Dow | США | К ОС | 2009 | 72 | 67 | 80 |
| 475 | Бобы желтые масличные | Китай | К ОС | 2001 | 74 | 75 | 80 |
| 2299 | без названия | Китай | Адл. ОС | 2012 | 72 | 71 | 72 |
| 2502 | без названия | Китай | Адл. ОС | 2012 | 64 | 70 | 76 |
| 2504 | без названия | Китай | Адл. ОС | 2016 | 12 | 13 | 20 |
| 4230 | Уссурийская 505 | Россия | К ОС | 2012 | 68 | 51 | 72 |
| 5085 | Cayuga | Нидерланды | К ОС | 2003 | 73 | 62 | 76 |
| 5137 | КСХИ 1085 | Молдова | ДВ ОС | 2006 | 80 | 87 | 88 |
| 5757 | Tokio Vert | Франция | ДВ ОС | 2004 | 63 | 86 | 100 |
| 5765 | Black hilum Manchu | США | К ОС | 2003 | 60 | 69 | 60 |
| 5767 | KIM | США | ДВ ОС | 2006 | 80 | 67 | 84 |
| 5801 | Viola Manchu Medisasch | США | ДВ ОС | 2006 | 88 | 82 | 88 |
| 6248 | Bombay | США | Адл. ОС | 2011 | 84 | 85 | 96 |
| 7021 | B 3 Light Brown | Франция | ДВ ОС | 2006 | 84 | 84 | 84 |
| 7039 | B 16 | Франция | ДВ ОС | 2007 | 72 | 89 | 80 |
| 7342 | 11-38 | Канада | ДВ ОС | 2012 | 88 | 79 | 92 |
| 7829 | 606-1 | Южная Корея | Адл. ОС | 2012 | 72 | 87 | 80 |
| 8237 | Karsu mame | Япония | Адл. ОС | 2012 | 72 | 56 | 84 |
| 8983 | 134-2 | Южная Корея | Адл. ОС | 2013 | 88 | 81 | 88 |
| 9784 | 614/83 | Германия | К ОС | 2014 | 16 | 17 | 16 |
| 9916 | So512 | США | К ОС | 2004 | 82 | 81 | 92 |
| 10023 | Carcarana | Аргентина | Адл. ОС | 2013 | 92 | 91 | 92 |

мости длительно хранить семена до оценки их итоговой всхожести, поэтому важно проводить анализ результатов хранения семян в сочетании с молекулярно-генетическими исследованиями.

Сохранение всхожести семян сои на уровне 78% от исходной после 6-22 лет НХ при –10°С в данном исследовании (см. табл. 1) близко к результатам хранения при –18°С в течение 25,5 лет и при –20°С в течение 30 лет, полученным другими исследователями (Desheva et al., 2017; Kiran Babu et al., 2018).

Снижение всхожести семян на 17% за шесть месяцев хранения при комнатных условиях после НХ (см. табл. 1) близко к таковым значениям за сопоставимый период хранения при температурах около 20°С и влажности 50-60% в многочисленных исследованиях (Fabrizius et al., 1999; Shelar et al., 2008; De Alencar, Faroni, 2011; Vyskvarka, 2013; Koskosidis et al., 2022; Singh et al., 2024; Manjari et al., 2026). Таким образом, хранение семян сои при низких температурах в течение 6-22 лет не привело к ускорению снижения всхожести после выемки семян и помещения их в комнатные условия по сравнению с темпами этого процесса без НХ.

Медианные значения $GI_1$ в трёх группах образцов, различающихся по исходной всхожести семян: ≤60%, 61-85% и ≥85, составляли 0,64, 0,77 и 0,81 соответственно, то есть группы образцов, имевших более высокую начальную всхожесть, сохраняли ее лучше образцов с более низкой всхожестью, их $GI_1$ был выше. Достоверно отличались от других значения $GI_1$ только в группе с самой низкой исходной всхожестью. Медианные $GI_2$ трёх групп образцов, имевших разную всхожесть после низкотемпературного хранения, составляли 0,76, 0,87 и 0,82 соответственно и достоверно не различались (см. табл. 1, см. табл. 2, см. рис. 2), то есть для хранения в комнатных условиях эта закономерность была выражена менее явно. У образцов с низкой ≤60% исходной всхожестью $GI_1$ после НХ достоверно отличался от $GI_1$ групп образцов с более высокой всхожестью: 61-85% и ≥85. Расчет корреляций показал, что связь между исходным значением всхожести и степенью изменения всхожести после НХ ($GI_1$) и после хранения в комнатных условиях ($GI_2$) отсутствует: коэффициенты корреляции r=0,14 и 0,16 соответственно (см. табл. 3). Таким образом, можно считать, что степень снижения всхожести после НХ и хранения в комнатных условиях практически не зависит от исходной всхожести семян.

Полученные результаты не противоречат требованию международных стандартов (Genebank Standards…, 2014) закладывать на длительное хранение образцы с высокой всхожестью, поскольку даже при схожих темпах снижения жизнеспособности образцами с низкой и высокой всхожестью конечный результат будет лучше у образцов, обладавших изначально высокими посевными качествами. И действительно, всхожесть образцов сои после НХ коррелирует с исходной всхожестью, r=0,61, а всхожесть после хранения в комнатных условиях коррелирует со всхожестью после НХ, r=0,65 (см. табл. 3).

Следует заметить, что, хотя у преобладающей части образцов в результате хранения всхожесть понижалась, у некоторых образцов всхожесть повышалась, как на первом, так и на втором этапе хранения. Эффекты повышения всхожести при хранении для бобовых были ранее показаны на люцерне (Acharya et al., 1999), но причина этого явления для сои пока не выяснена. В наших опытах это явно не было связано с явлением твердосемянности.

Не обнаружено достоверной связи между степенью изменения всхожести при НХ и при хранении в комнатных условиях, r= –0,05 (см. табл. 3). Отсутствие такой связи можно объяснять по-разному. Можно предположить, что при разных режимах большее влияние имеют разные факторы, снижающие качество семян, например, физиологические нарушения при созревании, нарушения режима хранения до закладки на НХ, механические повреждения при уборке и наличие бактериальной или грибковой инфекции. Выяснение связи каждого из этих вариантов повреждений семян со снижением всхожести при разных режимах хранения требует более детальных исследований.

При сравнении результатов хранения образцов, репродуцированных на разных опытных станциях, показано, что, судя по сохранению всхожести при НХ и последующем хранении в комнатных условиях, лучшие результаты показали семена, выращенные на ДВ ОС: средний $GI_1$=0,83 по сравнению с 0,79 для образцов с Адл. ОС и 0,69 для образцов с К ОС, средний $GI_2$=0,91 по сравнению с 0,76 для образцов с Адл. ОС и 0,74 для образцов с К ОС (см. табл. 4). Ранее было доказано, что способность семян к хранению снижают избыточно высокие температуры в период созревания, обычные для Адл. ОС и К ОС, но редко наблюдающиеся на ДВ ОС (Seferova et al., 2024).

## Заключение

В процессе хранения образцов сои при температуре –10°С и влажности семян 5,1-6,6% в течение 6-22 лет и при последующем хранении в комнатных условиях при температуре 17-25°С и влажности воздуха 40-60% в течение шести месяцев всхожесть семян сои снижалась постепенно от исходных значений 12-100% (медианное значение 82,0%) до 5-97% (медианное значение 64,5%) после НХ и от 0 до 100% (медианное значение 47,5%) после хранения при комнатной температуре.

Степень изменения всхожести после НХ и после хранения в комнатных условиях не связана с исходными значениями всхожести: r=0,14 и 0,16 соответственно. Однако всхожесть образцов сои после НХ коррелирует с исходной всхожестью: r=0,61. Всхожесть после хранения в комнатных условиях коррелирует со всхожестью после НХ: r=0,65.

Разброс значений индексов всхожести после НХ и последующего хранения в комнатных условиях сви-

детельствует о том, что образцы сои различаются по реакции на хранение. Сведения о конкретных образцах, лучше других сохранивших всхожесть, могут быть использованы в дальнейшем в генетических исследованиях.

Для выращивания образцов семян сои коллекции ВИР для последующего НХ наиболее подходящими являются условия ДВ ОС.

Для оптимизации использования в посеве образцов, подвергавшихся НХ, желательно сокращать период хранения семян в комнатных условиях. При оценке полевой всхожести семян после НХ необходимо учитывать изменение всхожести, которое выявлено у образцов семян после прекращения НХ и последующего хранения в комнатных условиях до посева.

В исследованиях, направленных на выявление генетических механизмов, определяющих способность семян сохранять всхожесть при НХ, необходимо принимать во внимание как условия формирования семян в поле, влияющие на их качество, так и возможное изменение всхожести после переведения семян с режима НХ на хранение при комнатной температуре.

## References/Литература


Acharya S.N., Stout D.G., Brooke B., Thompson D. Cultivar and storage effects on germination and hard seed content of alfalfa. *Canadian Journal of Plant Science.* 1999;79(2):201-208. DOI: 10.4141/P98-043

Arif M.A.R., Afzal I., Börner A. Genetic aspects and molecular causes of seed longevity in plants. A review. *Plants.* 2022;11(5):598. DOI: 10.3390/plants11050598

Bukharov A.F. Variability and heterogeneity of seeds: theory and practice (review). *Vegetable crops of Russia.* 2020;(2):23-31. [in Russian] (Бухаров А.Ф. Разнокачественность семян: теория и практика (обзор). *Овощи России.* 2020;(2):23-31). DOI: 10.18619/2072-9146-2020-2-23-31

de Alencar E.R., Faroni L.R.D'A. Storage of soybeans and its effects on quality of soybean sub-products. In: D. Krezhova (ed.). *Recent trends for enhancing the diversity and quality of soybean products*. London (United Kingdom): IntechOpen; 2011. DOI: 10.5772/18022

Desheva G., Petrova S., Deshev M. Germinability of soybean seeds stored more than 30 years in the Bulgarian national seed genebank. *World Scientific News*. 2017;69:29-46.

Fabrizius E., TeKrony D., Egli D.B., Rucker M. Evaluation of a viability model for predicting soybean seed germination during warehouse storage. *Crop Science.* 1999;39(1):194-201. DOI: 10.2135/cropsci1999.0011183X003900010030x

Genebank Standards for plant genetic resources for food and agriculture. Rome: FAO; 2014. Available from: https://www.fao.org/4/i3704e/i3704e.pdf [accessed Apr. 12, 2026]

Genebank Standards. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome: International Plant Genetic Resources Institute; 1994. Available from: https://www.researchgate.net/profile/Johannes-Engels-2/publication/236854421_Genebank_Standards/links/00b4951c18ea3a8e19000000/Genebank-Standards.pdf [accessed Apr. 12, 2026].

GOST 12038-84. Agricultural seeds. Methods for determination of germination. Moscow: Standartinform; 2011. [in Russian] (ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. Москва: Стандартинформ; 2011).

GOST 12041-82. Seed of farm crops. Method for determination of moisture content. Moscow: Standartinform; 2011. [in Russian] (ГОСТ 12041-82. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения влажности. Москва; 2011).

Kiran Babu P., Radhamani J., Aravind J., Varghese E., Tyagi R.K. Field performance of 30-year-old soybean germplasm conserved in Indian national genebank. *Indian Journal of Plant Genetic Resources*. 2018;31(2):152-163. DOI: 10.5958/0976-1926.2018.00018.9

Koskosidis A., Khah E.M., Pavli O.I., Vlachostergios D.N. Effect of storage conditions on seed quality of soybean (*Glycine max* L.) germplasm. *AIMS Agriculture and Food.* 2022;7(2):387-402. DOI: 10.3934/agrfood.2022025

Manjari T., Jayasurya J.V., Maodiswari V.J., Prasanna B., Kavya B., Ambika S., Manojkumar Y. Soybean storage and preservation: a comprehensive review of post-harvest challenges, technologies, and global perspectives. *Journal of Stored Products Research*. 2026;116:102910. DOI: 10.1016/j.jspr.2025.102910

Pritchard H.W., Dickie J.B. Predicting seed longevity: the use and abuse of seed viability equations. Ch. 35. In: R.D. Smith, J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard, R.J. Probert (eds). *Seed conservation: turning science into practice*. Kew (Surrey, UK): Royal Botanic Gardens; 2003. p.653-721. DOI: 10.1017/S0014479704232446

Seferova I.V., Filipenko G.I., Zabegayeva O.N., Boyko A.P., Nekrasov A.Yu., Novikova L.Yu. Germination of soybean seeds after low-temperature storage and its dependence on weather and climate conditions in the places of reproduction of accessions. *Plant Biotechnology and Breeding.* 2024;7(3):42-52. [in Russian] (Сеферова И.В., Филипенко Г.И., Забегаева О.Н., Бойко А.П., Некрасов А.Ю., Новикова Л.Ю. Всхожесть семян сои после низкотемпературного хранения и её зависимость от погодно-климатических условий в местах репродукции образцов. *Биотехнология и селекция растений*. 2024;7(3):42-52). DOI: 10.30901/2658-6266-2024-3-o6

Shelar V.R., Shaikh R.S., Nikam A.S. Soybean seed quality during storage: a review. *Agricultural Reviews*. 2008;29(2):125-131.

Singh S., Kanwar R., Kapila R.K., Dhiman K.C. Seed longevity and its association with agronomic traits in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. *Legume Research.* 2024;47(7):1185-1190. DOI: 10.18805/LR-4613

Solberg S.Ø., Yndgaard F., Andreasen C., von Bothmer R., Loskutov I.G., Asdal Å. Long-term storage and longevity of orthodox seeds: a systematic review. *Frontiers in Plant Science*. 2020;11:1007. DOI: 10.3389/fpls.2020.01007

Vishnyakova M.A., Seferova I.V., Buravtseva T.V., Burlyaeva M.O., Semenova E.V., Filipenko G.I., Aleksandrova T.G., Egorova G.P., Yankov I.I., Bulyntsev S.V., Gerasimova T.V., Drugova E.V. VIR global collection of grain legume crop genetic resources: replenishment, conservation and studying: (methodological guidelines). 2nd ed. M.A. Vishniyakova (ed.). St. Petersburg: VIR; 2018. [in Russian] (Вишнякова М.А., Сеферова И.В., Буравцева Т.В, Бурляева М.О., Семенова Е.В., Филипенко Г.И., Александрова Т.Г., Егорова Г.П., Яньков И.И., Булынцев С.В., Герасимова Т.В., Другова Е.В. Коллекция мировых генетических ресурсов зерновых бобовых ВИР: пополнение, сохранение и изучение: (методические указания). 2-е изд. / под ред. М.А. Вишняковой. Санкт-Петербург: ВИР; 2018).

Vyskvarka G.S., Semenova E.A., Selihova O.A., Tikhonchuk P.V. Changing sowing qualities of seeds of *Glycine max* and *Glycine soja* during prolonged storage in different conditions. *Achievements of science and technology of AIC.* 2013;(7):61-63. [in Russian] (Выскварка Г.С., Семенова Е.А., Селихова О.А., Тихончук П.В. Изменение посевных качеств семян *Glycine max* и *Glycine soja* при длительном хранении в разных условиях. *Достижения науки и техники АПК.* 2013;(7):61-63).

## *Информация об авторах*

**Ирина Владимировна Сеферова,** кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, отдел генетических ресурсов зерновых бобовых культур, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, i.seferova@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0003-3308-9198
**Галина Ивановна Филипенко,** кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, исполняющая обязанности заведующего, лаборатория долгосрочного хранения генетических ресурсов, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, g.filipenko@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0001-8419-1518
**Александр Юрьевич Некрасов,** старший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Кубанская опытная станция – филиал ВИР, 352183 Россия, Краснодарский край, Гулькевичский район, пос. Ботаника, ул. Центральная, 2, kos.vir.nekrasov@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7332-1209
**Ольга Николаевна Забегаева,** старший научный сотрудник, лаборатория долгосрочного хранения генетических ресурсов, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, o.zabegaeva@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0002-6316-3232

## *Information about the authors*

**Irina V. Seferova,** Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Department of Grain Legume Crop Genetic Resources, N.I. Vavilov All Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, i.seferova@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0003-3308-9198
**Galina I. Filipenko,** Cand. Sci. (Agriculture), Leading Researcher, Acting Head, Laboratory of Long-Term Storage of Genetic Resources, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, g.filipenko@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0001-8419-1518
**Alexander Yu. Nekrasov,** Senior Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), Kuban Experiment Station, a branch of VIR, Botanika Settlement, Gulkevichsky District, Krasnodar Region, 352183 Russia, kos.vir.nekrasov@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7332-1209
**Olga N. Zabegayeva,** Senior Researcher, Laboratory of Long-Term Storage of Genetic Resources, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, o.zabegaeva@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0002-6316-3232

***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 conflict of interests.

Статья поступила в редакцию 14.04.2026; одобрена после рецензирования 30.04.2026; принята к публикации 16.09.2026.
The article was submitted on 14.04.2026; approved after reviewing on 30.04.2026; accepted for publication on 16.09.2026.

**Краткое сообщение**
**УДК 547.587.51:633.366**
**DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o7**

(cc) BY

# Методика определения содержания кумаринов в семенах донника

**И. Г. Захарчевный, В. С. Попов, О. В. Дук, Л. Л. Малышев**

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

***Автор, ответственный за переписку:*** Захарчевный Иван Григорьевич ivan.saint-petersburg@yandex.ru

**Введение.** Донник *Melilotus* Mill. – это ценная бобовая культура с большим фитомелиоративным потенциалом. Присутствие кумаринов способствует преодолению растением неблагоприятных условий внешней среды. Однако, соединения фенольной природы, обладающие горьким вкусом и специфическим запахом, ухудшают поедаемость кормов из донника. Одно из важнейших направлений селекции донника – создание сортов с определенным содержанием кумаринов, от которого зависит их дальнейшее использование. Для отбора селекционного материала по этому признаку требуются легко воспроизводимые лабораторные методы определения кумаринов в растительном сырье. Исследовали семена шести образцов донника из коллекции ВИР. Применили модифицированную методику спектрофотометрического определения содержания кумаринов в спиртовом извлечении из измельченных семян. Количественное определение кумаринов проводили с помощью спектрофотометра UV-3000 (Китай), при длине волны 310 нм. Расчет содержания кумаринов производили на основе калибровочной кривой, построенной на растворах кумарина различной концентрации. **Заключение.** Разработана и опробована методика выделения и количественного определения суммы кумаринов в семенах шести образцов донника, относящихся к пяти разным видам.

***Ключевые слова*:** *Melilotus* Mill., кумарины, семена, спектрофотометрия, коллекция ВИР

***Благодарности:*** работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту: FGEM-2022-0002 «Выявление возможностей генофонда бобовых культур для оптимизации их селекции и диверсификации использования в различных отраслях народного хозяйства». Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

***Для цитирования:*** Захарчевный И.Г., Попов В.С., Дук О.В., Малышев Л.Л. Методика определения содержания кумаринов в семенах донника. *Биотехнология и селекция растений.* 2026;9(3):84-90. DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o7

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.

© Захарчевный И.Г., Попов В.С., Дук О.В., Малышев Л.Л., 2026

**Brief communication**
**DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o7**

# A method for determining the content of coumarins in sweet clover seeds

**Ivan G. Zakharchevnyy, Vitaliy S. Popov, Olga V. Duk, Leonid L. Malyshev**

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

***Corresponding author:*** Ivan G. Zakharchevnyy, ivan.saint-petersburg@yandex.ru

**Introduction.** *Melilotus* Mill. is a valuable legume crop with a great phytomeliorative potential. The coumarins contained in plants help them to overcome adverse environmental conditions, however, phenolic compounds, which have a bitter taste and a specific odor, reduce the palatability of sweet clover feeds. One of the most important directions in sweet clover breeding is the creation of cultivars with a specific coumarin content, which determines their further use. Selection of initial material for this trait requires easily reproducible laboratory methods for determining coumarins in plant raw materials. Seeds of six *Melilotus* accesssions from the VIR collection were studied. A modified method of spectrophotometric determination of coumarins content in alcohol extraction from crushed seeds was applied. The quantitative determination of coumarins was made on a UV-3000 spectrophotometer (China) at a wavelength of 310 nm. The coumarins content was calculated on the basis of a calibration curve constructed using coumarin solutions of different concentrations. **Conclusions.** A method for isolating and quantifying total coumarins in the seeds of six *Melilotus* accessions belonging to five different species has been developed and tested.

***Keywords***: *Melilotus* Mill., coumarins, seeds, spectrophotometry, VIR collection

***Acknowledgements:*** this work was carried out as part of a State Assignment in accordance with the VIR Thematic Plan project FGEM-2022-0002 “Identifying the potential of legume crop gene pools for optimizing their breeding and diversifying their use in various sectors of the national economy”.

***For citation:*** Zakharchevnyy I.G., Popov V.S., Duk O.V., Malyshev L.L. Method for determining the content of coumarins in sweet clover seeds. *Plant Biotechnology and Breeding.* 2026;9(3):84-90. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o7

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.

© Zakharchevnyy I.G., Popov V.S., Duk O.V., Malyshev L.L., 2026

## Введение

Донник *Melilotus* Mill. – это ценная кормовая культура из семейства бобовых Fabaceae Lindl., относящаяся к трибе клеверных Trifolieae Endl. Род *Melilotus* насчитывает по разным данным от 19 до 22 видов. В настоящее время в культуру введены шесть видов рода: донник белый *M. albus* Medik., донник желтый *M. officinalis* (L.) Pall., донник зубчатый *M. dentatus* (Waldst. & Kit.) Pers., донник волжский *M. wolgicus* Poir., донник волосистый *M. hirsutus* Lipsky и донник душистый *M. suaveolens* Ledeb. Вышеперечисленные виды донника неприхотливы в отношении плодородия почв, устойчивы к засухе и засолению (Talovina, Smekalova, 2021).

Донник – пример культуры многоцелевого использования, так как помимо кормового значения, является хорошим фитомелиорантом. Присутствие кумаринов в составе зеленой массы донника связывают с устойчивостью растения к стрессовым факторам среды: засуха, засоление почв, насекомые-вредители (Baidalin et al., 2022).

Донник является медоносом. С одного гектара белого донника *M. albus* в зависимости от климатических условий и агрофона можно получить до 200-500 кг меда (Glukhov, 1974).

Несмотря на все вышеперечисленные достоинства, содержание кумаринов в зеленой массе накладывает некоторые ограничения на кормовое использование донника. Кумарины – это биологически активные вещества, в растении присутствуют чаще всего в форме гликозидов, производных оксикоричной кислоты. Кумарины придают горький вкус и специфический запах, из-за чего снижается потребление корма животными. С другой стороны, наличие кумаринов делает траву донника ценным сырьем для фармацевтической промышленности (Dridiger, 2014).

Таким образом, для создания перспективных сортов донника необходимы источники как с высоким, так и с низким содержанием кумаринов. Чаще всего кумарины определяются в зеленой массе растения. Ранее Сагалбеков с соавторами установили, что корреляция между содержанием кумарина в семенах донника и таковым в зеленой массе достигает 0,7. Данный факт объясняется тем, что в семенах активность ферментов, разрушающих кумарины, резко снижена и их содержание можно отнести к стабильным показателям (Sagalbekov et al., 2013). Поэтому разработка и модификация методик определения кумаринов в семенах является актуальной задачей. Для селекционного отбора по признаку «содержание кумаринов» важно наличие легко воспроизводимых методик распределения исходного материала по содержанию кумаринов. Известны различные методы определения кумаринов. Наиболее часто применяемые из них – это спектрофотометрический метод, в том числе с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Для извлечения смеси кумаринов из растительного сырья чаще всего применяют хлороформ с последующей очисткой извлеченной смеси кумаринов гексаном или этанолом различных концентраций (Zibareva, 2022; Farhutdinov et al., 2016; Kubasova et al., 2021; Suhail et al., 2008).

**Цель нашей работы** – модификация методики определения содержания суммы кумаринов для семян донника *Melilotus* Mill., подходящей для рутинного лабораторного исследования большой выборки. Предложенный метод отличается от уже существующих методик определения кумаринов в растительном сырье способом подготовки экстракта с целевыми соединениями для спектрофотометрического анализа. Нами подобраны объемы разведений и условия центрифугирования, позволяющие получить раствор, наиболее очищенный от взвеси белков и крахмала.

**Объектом** нашего исследования были семена шести образцов донника из коллекции ВИР: два образца донника желтого *Melilotus officinalis*, образец донника белого *Melilotus albus*, донника польского *Melilotus polonicus* (L.) Pall., донника волжского *Melilotus wolgicus* и донника волосистого *Melilotus hirsutus*. Образцы были отобраны на основании разного содержания кумаринов в зелёной массе образца (Suvorov, 1962).

**Извлечение кумаринов** проводили по следующей методике:

семена донника растирали до тонкоизмельченного состояния в фарфоровой ступке и переносили точную навеску (0,1 г) в коническую колбу вместимостью 100 мл, заливали 50 мл 70%-ного этилового спирта. Колбу с содержимым взвешивали и кипятили на водяной бане с обратным водяным холодильником 60 минут с момента закипания спирта в колбе. После охлаждения колбу доводили до первоначальной массы соответствующим спиртом, содержимое перемешивали. Затем экстракт помещали в пробирку и центрифугировали 15 минут при 7000 об/мин. Полученный супернатант разводили 70%-ым этанолом 1:3 и спектрофотометрировали при длине волны 310 нм на спектрофотометре UV-3000 (Shanghai Mapada Instruments Co., Ltd., Китай). В качестве раствора сравнения применяли 70%-ый этиловый спирт.

В качестве раствора сравнения использовали 0,0008% раствор кумарина $C_9H_6O_2$ при массовой доле основного вещества не менее 97% (Реактив, Россия) в 70%-м этиловом спирте. На рисунке 1 изображены спектры стандартного образца кумарина и спиртового извлечения из семян донника. Профили спектров вполне сопоставимы и имеют пики при одинаковых длинах волн 200, 276 и 310 нм, что по данным литературы соответствует спектру кумарина (Krasnov et al., 1987; Morozova, Blagorazumnaya, 2008).

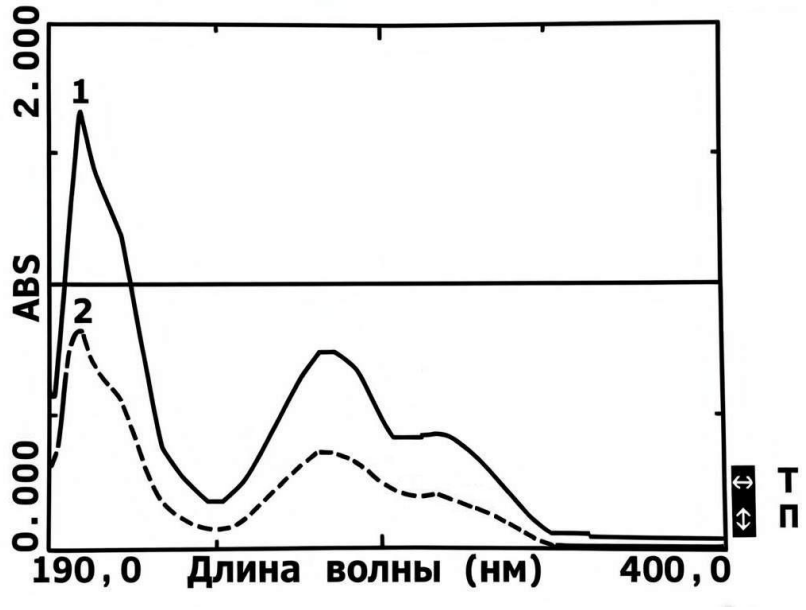



**Рис. 1. Спектры поглощения стандартного образца кумарина (1) и спиртового извлечения из семян донника (2): образец к-43714 из коллекции ВИР**

**Fig. 1. Absorption spectra of a standard coumarin sample (1) and an alcohol extract from sweet clover seeds (2): accession k-43714 from the VIR collection**

Для построения калибровочного графика готовили серию растворов кумарина в спирте в следующих концентрациях: 0,0025 г/мл; 0,005 г/мл; 0,01 г/мл; 0,02 г/мл; 0,04 г/мл; 0,08 г/мл; 0,16 г/мл. Графическое выражение зависимости изменения оптической плотности раствора от концентрации и уравнение линии тренда представлены на рисунке 2.

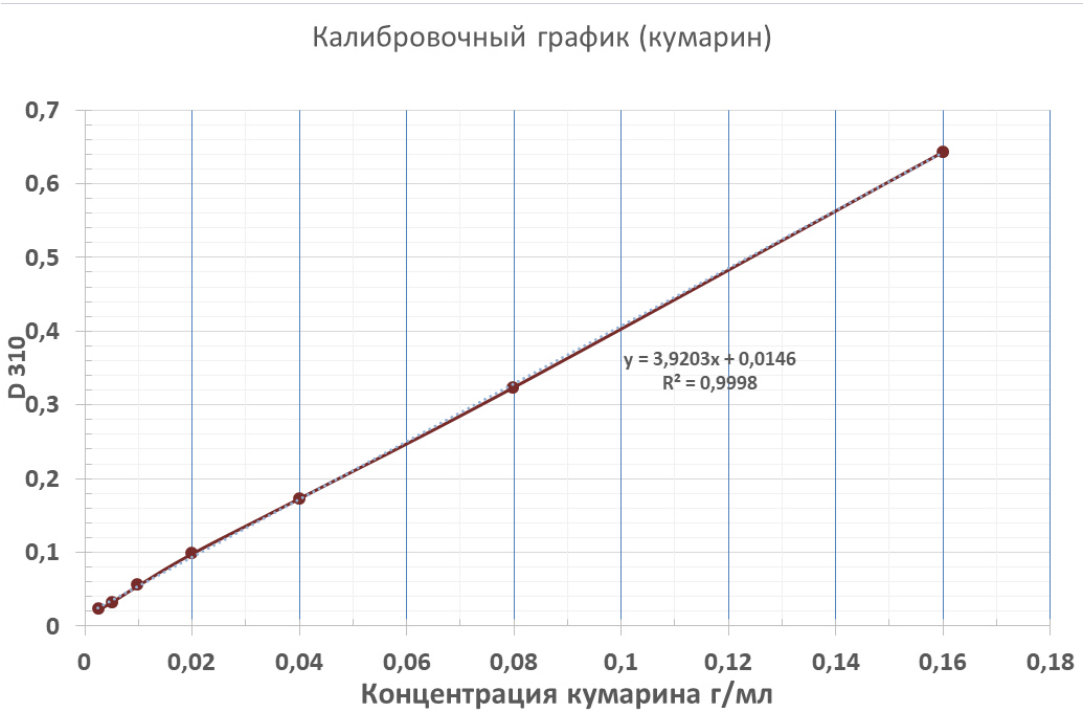



**Рис. 2. Калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации кумарина**

**Fig. 2. Calibration graph of the optical density vs. coumarin concentration**

Содержание кумаринов в семенах донника в % от сухой массы определяли по формуле (1):

$$X = \frac{S \cdot D \cdot V \cdot V_2 \cdot 100}{m \cdot V_1 \cdot 1000 \cdot (100 - W)} \quad (1)$$

где: S – концентрация кумарина, взятая из калибровочной кривой; D – оптическая плотность испытуемого раствора; m – масса сырья, г; V, $V_1$ и $V_2$ – исходный объем и объемы разведения, $см^3$; W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

**Результатом нашей работы** стало получение данных о суммарном содержании кумаринов в семенах донника в % от сухой массы. Опыт проводили в трех повторностях и определяли ошибку среднего полученных результатов. Полученные данные представлены в таблице.

**Таблица. Содержание кумаринов в семенах изучаемых образцов донника**

**Table. Coumarins content in the studied sweet clover seed samples**

| № каталога ВИР/ VIR Catalogue No. | Вид/ Species | Название/ Name | Происхождение/ Origin | Содержание кумаринов/ Coumarin content*, % |
|---|---|---|---|---|
| 43714 | Донник белый *M. albus* | Дикорастущий | Израиль | 0,222±0,004 |
| 53993 | Донник польский *M. polonicus* | Дикорастущий | Казахстан | 0,178±0,002 |
| 11620 | Донник волжский *M. wolgicus* | Дикорастущий | Самарская обл. | 0,235±0,013 |
| 36679 | Донник желтый *M. officinalis* | Малокумаринный | США | 0,203±0,002 |
| 54006 | Донник волосистый *M. hirsutus* | Дикорастущий | Краснодарский кр. | 0,202±0,004 |
| 36680 | Донник желтый *M. officinalis* | Малокумаринный | США | 0,213±0,003 |

* Среднее значение ± стандартное отклонение ($\bar{x}$ ± sd), %
Mean value ± standard deviation ($\bar{x}$ ± sd), %

**Разработанная и опробованная нами методика** позволяет выполнить работу по распределению изучаемых образцов коллекции в зависимости от количества содержащихся в растениях кумаринов. Методика легко воспроизводима на стандартном лабораторном оборудовании и не требует применения сложных систем растворителей.

Выбор семян в качестве объекта исследования позволяет преодолеть ряд трудностей при изучении кумаринов по сравнению с зелеными частями растений. В семенах кумарины менее подвержены гидролизу, а в зеленой массе происходит быстрый распад соединений фенольной природы при уборке, транспортировке и хранении образцов для лабораторного исследования. По данным приведенным в патенте «Способ определения и отбора бескумаринных форм донника» (Sagalbekov et al., 2013), коэффициент корреляции между содержанием кумаринов в семенах донника и выращенной из этих семян зеленой массе равен 0,73±0,11. Таким образом, определив содержание кумаринов в семенах, можно прогнозировать содержание этих веществ в вегетативных органах растения.

Кумарины хорошо растворимы в таких органических растворителях как хлороформ, этиловый спирт. В качестве растворителя нами был выбран 70% этиловый спирт как наиболее доступный растворитель. Также применение этанола позволяет проводить экстракцию с некоторым избытком по времени, что гарантирует полноту извлечения. Время экстракции – 60 минут – было выбрано нами на основании данных приведенных в широко распространенных методиках выделения веществ фенольной природы из растительного сырья в этанольных растворах (Krasnov et al., 1987; Fedoseyeva, Kharlampovich, 2012; Ladygina et al., 1983).

Спиртовой экстракт из семян донника содержит большое количество примесей, находящихся в растворе в виде суспензий, а также растворенные пигменты. Поэтому для спектрофотометрического анализа необходимо центрифугирование экстракта для очистки извлечения от примесей: белков, крахмала, и последующее разведение супернатанта.

Спектрофотометрическое определение кумаринов проводилось в УФ области спектра при длине волны 310 нм, так как этанольные растворы этих веществ имеют максимумы поглощения при данной длине волны (Ladygina et al., 1983).

## Заключение

1. Разработана и опробована методика спиртовой экстракции кумаринов из семян донника *Melilotus* Mill.

2. Подобраны условия подготовки спиртового извлечения для спектрофотометрического определения количественного содержания кумаринов.

3. Построен калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации кумарина.

4. По разработанной методике определено содержание кумаринов в семенах шести образцов донника разных видов из коллекции ВИР. Полученные результаты соотносятся с опубликованными данными по содержанию кумаринов в семенах донника.

## References/Литература


Baidalin M.E., Sagalbekov U.M., Baidalina S.E., Akhet A.O., Baiken A.S. Effect of coumarin on resistance of sweetclover and method of fodder harvesting that reduces high coumarin concentration. *Research, results*. 2022;4(96):63-72. [in Russian] (Байдалин М.Е., Сагалбеков У.М., Байдалина С.Е., Ахет А.О., Байкен А.С. Влияние кумарина на устойчивость донника и способ заготовки корма, снижающий высокую концентрацию кумарина. *Исследования, результаты*. 2022;4(96):63-72). DOI: 10.37884/4-2022/08

Dridiger V.K. Sweet clover: Monograph (Donnik: Monografiya). Stavropol: Agrus; 2014. [in Russian] (Дридигер В.К. Донник: Монография. Ставрополь: Агрус; 2014).

Farkhutdinov R.G., Kudashkina N.V., Zainullin R.A., Khasanova S.R., Latypova G.M., Ivanov I.I. Fundamentals of phytochemical analysis: textbook (Osnovy fitokhimicheskogo analiza: uchebnoye posobiye). Ufa: Editorial and Publishing Center of the Bashkir State University; 2016. [in Russian] (Фархутдинов Р.Г., Кудашкина Н.В., Зайнуллин Р.А., Хасанова С.Р., Латыпова Г.М., Иванов И.И. Основы фитохимического анализа: учебное пособие. Уфа: РИЦ БашГУ; 2016).

Fedoseyeva L.M., Kharlampovich T.A. Development of a method for quantitative determination of total coumarins in sweet yellow clover herbage. (Razrabotka metodiki kolichestvennogo opredeleniya summy kumarinov v donnika lekarstvennogo trave). *Chemistry of plant raw materials = Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. 2012;3:135-141. [in Russian] (Федосеева Л.М., Харлампович Т.А. Разработка методики количественного определения суммы кумаринов в донника лекарственного траве. *Химия растительного сырья*. 2012;3:135-141).

Glukhov M.M. Honey-bearing plants. 7th edition, revised and expanded (Medonosnyie rasteniya. Izdaniye 7-ye, pererabotannoye i dopolnennoye). Moscow: Kolos; 1974. [in Russian] (Глухов М.М. Медоносные растения. Издание 7-е, переработанное и дополненное. М.: Колос; 1974).

Krasnov E.A., Berezovskaya T.P., Alekseyuk N.V., Belousova N.I., Demidenko L.A., Dudko V.V., Dmitruk S.E., Kalinkina G.I., Romanova G.A. Isolation and analysis of natural biologically active substances (Vydeleniye i analiz prirodnykh biologicheski aktivnykh veshchestv). Tomsk: Tomsk University Press; 1987. [in Russian] (Краснов Е.А., Березовская Т.П., Алексеюк Н.В., Белоусова Н.И., Демиденко Л.А., Дудко В.В., Дмитрук С.Е., Калинкина Г.И., Романова Г.А. Выделение и анализ природных биологически активных веществ. Томск: Издательство Томского университета; 1987).

Kubasova E.D., Korelskaya G.V., Sukhanov A.E., Krylov I.A., Kubasov R.V. Detection and quantitative determination of coumarins in the plant raw materials of the medicinal plant growing in Arkhangelsk Oblast. *International Research Journal*. 2021;10(112-1):145-148. [in Russian] (Кубасова Е.Д., Корельская Г.В., Суханов А.Е., Крылов И.А., Кубасов Р.В. Обнаружение и количественное определение кумаринов в растительном сырье любистока лекарственного, произрастающего в Архангельской области. Международный научно-исследовательский журнал. 2021;10(112-1):145-148). DOI: 10.23670/IRJ.2021.112.10.024

Ladygina E.Ya., Safronich L.N., Otryashenkova V.E., Balandina I.A., Grinkevich N.I., Sorokina A.A., Sokolsky I.N., Glyzin V.I., Molodozhnikova L.M., Mitin Yu.S., Samylina I.A., Ermakova V.A. N.I. Grinkevich , L.N. Safronich (eds). Chemical analysis of medicinal plants. Textbook for Pharmaceutical Universities (Khimicheskiy analiz lekarstvennykh rasteniy. Uchebnoye posobiye dlya farmatsevticheskikh vuzov). Moscow: Vysshaya Shkola; 1983. [in Russian] (Ладыгина Е.Я., Сафронич Л.Н., Отряшенкова В.Э., Баландина И.А., Гринкевич Н.И., Сорокина А.А., Сокольский И.Н., Глызин В.И., Молодожникова Л.М., Митин Ю.С., Самылина И.А., Ермакова В.А. Химический анализ лекарственных растений. Учебное пособие для фармацевтических вузов / под ред. Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронич. Москва: Высшая школа; 1983).

Morozova E.V., Blagorazumnaya N.V. Development of a method for the quantitative determination of coumarins in a complex extract with antifungal action obtained using various extractants (Razrabotka metodiki kolichestvennogo opredeleniya kumarinov v kompleksnom ekstrakte protivogribkovogo deystviya, poluchennogo razlichnymi ekstragentami. *Fundamental Research*. 2008;8:75. [in Russian] (Морозова Е.В., Благоразумная Н.В. Разработка методики количественного определения кумаринов в комплексном экстракте противогрибкового действия, полученного различными экстрагентами. *Фундаментальные исследования*. 2008;8:75).

Sagalbekov U.M., Onalov S.Zh., Sagalbekov E.U. Method for determination and selection of coumarin-free forms of sweet clover. Republic of Kazakhstan; patent for an invention number: 27680 (Sposob opredeleniya i otbora beskumarinnykh form donnika. Respublika Kazakhstan; patent na izobreteniye № 27680); 2013. [in Russian] (Сагалбеков У.М., Оналов С.Ж., Сагалбеков Е.У. Способ определения и отбора бескумаринных форм донника. Республика Казахстан; патент на изобретение № 27680; 2013).

Suhail A.M., Mohtasheem M., Igbal A., Ahmed S.W., Bano H. Chemical constituents from *Melilotus officinalis*. *Basic and Applied Sciences*. 2008;4(2):89-94.

Suvorov V.V. Sweet clover. (Donnik). Leningrad, Moscow: Selkhozizdat, Leningrad branch; 1962. [in Russian] (Суворов В.В. Донник. Ленинград; Москва: Сельхозиздат, Ленинградское отделение; 1962).

Talovina G.V., Smekalova T.N. Genus *Melilotus* in the flora of Russia and adjacent countries. *Vavilovia*. 2021;4(4):3-27. [in Russian] (Таловина Г.В., Смекалова Т.Н. Род *Melilotus* флоры России и сопредельных стран. *Vavilovia*. 2021;4(4):3-27). DOI: 10.30901/2658-3860-2021-4-3-27

Zibareva L.N. Phytochemistry. Compounds of the polyphenol complex: educational and methodological guide. Tomsk: Tomsk State University Publishing House; 2022. [in Russian] (Зибарева Л.Н. Фитохимия. Соединения полифенольного комплекса: учебно-методическое пособие. Томск: Издательство Томского государственного университета; 2022).

## *Информация об авторах*

**Иван Григорьевич Захарчевный,** аспирант, специалист, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, ivan.saint-petersburg@yandex.ru, https://orcid.org/0009-0002-6168-5907
**Виталий Сергеевич Попов,** кандидат технических наук, старший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, v.popov@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0003-3274-7662
**Ольга Владимировна Дук,** кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий специалист, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, duk-olg@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-9441-5802
**Леонид Леонидович Малышев,** кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, l.malyshev@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0002-8595-1336

## *Information about the authors*

**Ivan G. Zakharchevnyy,** Postgraduate Student, Specialist, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, ivan.saint-petersburg@yandex.ru, https://orcid.org/0009-0002-6168-5907
**Vitaliy S. Popov,** Cand. Sci. (Engineering), Senior Researcher, All-Russian N.I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, v.popov@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0003-3274-7662
**Olga V. Duk,** Cand. Sci. (Agriculture), Leading Specialist, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, duk-olg@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-9441-5802
**Leonid L. Malyshev,** Cand. Sci. (Agriculture), Leading Researcher, 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

***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 24.01.2026; одобрена после рецензирования 06.03.2026; принята к публикации 14.08.2026.
The article was submitted on 24.01.2026; approved after reviewing on 06.03.2026; accepted for publication on 14.08.2026.

**Краткое сообщение**
**УДК 575.1/.2**
**DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o1**

(cc) BY

# Особенности организации дуплицированных копий ортологов генов *AtTT2* и *AtTT8* арабидопсиса в геноме аллотетраплоидного хлопчатника

**А. С. Михайлова, Е. К. Хлесткина**

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

***Автор, ответственный за переписку:*** Александра Сергеевна Михайлова, a.mikhailova@vir.nw.ru

*Arabidopsis thaliana* L. является классическим модельным объектом, у которого подробно описаны механизмы регуляции биосинтеза флавоноидных пигментов с участием генов *AtTT2*, относящихся к семейству R2R3-MYB, и *AtTT8* из семейства bHLH-MYC. Актуальным остается вопрос о судьбе дуплицированных копий у аллополиплоидных видов, возникших в результате межвидовой гибридизации, удобной моделью для изучения которого является хлопчатник вида *Gossypium hirsutum* L. В субгеномах At и Dt *G. hirsutum* идентифицированы копии генов *GhTT2, GhMYB10* и *GhTT8*, являющиеся ортологами соответствующих генов *A. thaliana.* В настоящей работе на основе секвенирования аллелей указанных регуляторных генов у образцов хлопчатника с контрастной окраской волокна и гипокотиля оценивается роль аллополиплоидизации в эволюции дуплицированных регуляторных генов, кодирующих компоненты MBW-комплекса: транскрипционные факторы семейств R2R3-MYB, bHLH-MYC, WD40. Для генов семейства R2R3-MYB хлопчатника выявлен асимметричный характер эволюции, при котором гены субгенома At эволюционируют быстрее и находятся под менее строгим очищающим отбором по сравнению с гомеологами субгенома Dt. Секвенированные последовательности впервые депонированы в международную базу данных GenBank (NCBI).

***Ключевые слова*:** *Gossypium hirsutum* L., природноокрашенное волокно, R2R3-MYB, bHLH-MYC, дуплицированные копии генов, гомеологичные гены, асимметричный характер эволюции

***Благодарности:*** выражаем благодарность сотрудникам отдела генетических ресурсов масличных и прядильных культур ВИР, а также к.б.н., в.н.с. и куратору коллекции хлопчатника Ларисе Петровне Подольной за предоставление материала для исследований и активное сотрудничество. Работа выполнена в рамках темы НИР FGEM-2022-0007 «Выявление новых генетических маркеров селекционно значимых свойств и новых аллельных вариантов хозяйственно ценных генов в генофонде культурных растений и их диких родичей при помощи геномных и постгеномных технологий».

***Для цитирования:*** Михайлова А.С., Хлесткина Е.К. Особенности организации дуплицированных копий ортологов генов *AtTT2* и *AtTT8* арабидопсиса в геноме аллотетраплоидного хлопчатника. *Биотехнология и селекция растений.* 2026;9(3):91-99. DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o1

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

© Михайлова А.С., Хлесткина Е.К., 2026

**Brief communication**
**DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o1**

# Organization of duplicated copies of the *Arabidopsis* gene orthologs *AtTT2* and *AtTT8* in the allotetraploid cotton genome

**Aleksandra S. Mikhailova, Elena K. Khlestkina**

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

***Corresponding author:*** Aleksandra S. Mikhailova, a.mikhailova@vir.nw.ru

*Arabidopsis thaliana* L. is a classic model organism in which the regulatory mechanisms of flavonoid pigment biosynthesis involving the *AtTT2* gene (R2R3-MYB family) and *AtTT8* (bHLH-MYC family) have been characterized in detail. The fate of duplicated copies in allopolyploid species that arose as a result of interspecific hybridization remains a topical question, and cotton *Gossypium hirsutum* L. provides a convenient model to address it. In the genome of *G. hirsutum*, copies of the genes *GhTT2*, *GhMYB10*, and *GhTT8* have been identified in the At- and Dt-subgenomes; these copies are orthologs of the corresponding *A. thaliana* genes. Based on the sequencing of alleles of these regulatory genes in cotton accessions with contrasting fiber and hypocotyl pigmentation, this study evaluates the role of allopolyploidization in the evolution of duplicated regulatory genes encoding components of the MBW complex, namely R2R3-MYB, bHLH-MYC, and WD40 transcription factors. The cotton R2R3-MYB gene family has been found to evolve asymmetrically, when genes of the At subgenome evolve faster and are subject to a less stringent purifying selection compared to their homeologs in the Dt subgenome. It is for the first time that the gene sequences were deposited in the international GenBank database (NCBI).

***Keywords***: *Gossypium hirsutum* L., naturally colored fiber, R2R3-MYB, bHLH-MYC, duplicated gene copies, homoeologous genes, asymmetric evolution

***Acknowledgements:*** the authors thank the Department of Oil and Fiber Crop Genetic Resources of VIR, and Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher and the Cotton Collection Curator, Larisa P. Podolnaya, for providing the research material and for active collaboration. The article was prepared within the framework of the VIR project FGEM-2022-0007 “Identifying new genetic markers of significant traits for breeding and new allelic versions of agronomically important genes in the genetic diversity of cultivated plants and their wild relatives using genomic and postgenomic technologies”.

***For citation:*** Mikhailova A.S., Khlestkina E.K. Organization of duplicated copies of the *Arabidopsis* gene orthologs *AtTT2* and *AtTT8* in the allotetraploid cotton genome. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2026;9(3):91-99. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o1

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

© Mikhailova A.S., Khlestkina E.K., 2026

## Введение

Процессы полиплоидизации способствуют расширению видового разнообразия растений и играют важную роль в эволюции их геномов (Otto, Whitton, 2000; Rutland et al., 2021). В новообразованных полиплоидах большинство дуплицированных генов находится под действием очищающего отбора, однако часть копий подвергается субфункционализации или неофункционализации, либо утрачивает функциональность в ходе псевдогенизации (Force et al., 1999; Magadum et al., 2013). Распределение исходных функций между вновь возникшими дуплицированными генами или приобретение новых повышает адаптивный потенциал и способствует приобретению пластичности генома у многих видов растений (Leitch, Leitch, 2008; Renny-Byfield, Wendel, 2014).

Удобной моделью для изучения механизмов регуляции дуплицированных генов и путей их адаптивных изменений являются гены, кодирующие флавоноиды, благодаря хорошо изученным путям метаболизма этих соединений и широкому разнообразию обусловленной ими пигментации в различных тканях растений (Winkel-Shirley, 2001; Koes et al., 2005; Gould, Lister, 2005; Peng et al., 2012; Shoeva et al., 2017). Ферменты, осуществляющие превращения в ходе биосинтеза метаболитов флавоноидного пути, кодируются структурными генами (Saito et al., 2013). Экспрессию этих генов контролирует MBW-комплекс, включающий транскрипционные факторы (ТФ) семейств R2R3-MYB, bHLH-MYC и WD40, кодируемые соответствующими регуляторными генами (Koes et al., 2005). Ранее было продемонстрировано, что регуляторные гены флавоноидного пути, как правило, эволюционируют быстрее структурных генов-мишеней, в связи с чем представляют наибольший интерес для отслеживания таких изменений (Rausher et al., 1999).

*Arabidopsis thaliana* L. является классическим модельным объектом, у которого подробно описаны механизмы регуляции биосинтеза флавоноидных пигментов (Walker et al., 1999; Koes et al., 2005; Gonzalez et al., 2008; Katiyar et al., 2012). Накопление проантоцианидинов (ПА), относящихся к классу флавоноидных пигментов, в семенной кожуре *A. thaliana* регулирует MBW-комплекс, компоненты которого кодируют идентифицированные регуляторные гены *AtTT2*, которые относят к семейству R2R3-MYB, *AtTT8* – к семейству bHLH-MYC, *AtTTG1* – к семейству WD40 (Walker et al., 1999; Nesi et al., 2000; Baudry et al., 2004; 2006; Gonzalez et al., 2008). В свою очередь, хлопчатник *Gossypium hirsutum* L. с диплоидным набором хромосом 2n=4x=52, геномным составом $AD_1$, представляет собой удобную модель аллотетраплоидного вида, с использованием которой можно детально оценить влияние процесса межвидовой гибридизации диплоидных предков с геномом A, который унаследован от афро-азиатских видов, близких к *Gossypium arboreum* L. и *Gossypium herbaceum* L., и D, унаследованным от американских видов, близких к *Gossypium raimondii* L., с последующим удвоением генома, что привело к эволюции дуплицированных генов, кодирующих компоненты MBW-комплекса.

Среди регуляторных генов хлопчатника, вовлеченных в биосинтез ПА в волокне бурых оттенков, были выделены два гена из семейства R2R3-MYB – *GhTT2-A1*, также известный как *GhMYB36* и *GhTT2-3A*, и *GhMYB10* (ортологи гена *AtTT2 A. thaliana*), один из семейства bHLH-MYC – *GhTT8* (ортолог *AtTT8*), и два из WD40 – *GhTTG1* и *GhTTG3* (ортологи *AtTTG1* и *AtTTG3*) (Humphries et al., 2005; Lu et al., 2017; Yan et al., 2018). Позднее с помощью поиска по гомологии на основании известных генов *AtTT2* (TAIR: AT5G35550) и *AtTT8* (AT4G09820) в геноме *G. hirsutum* дополнительно идентифицированы гомологичные гены-кандидаты, вовлеченные в биосинтез флавоноидных пигментов: шесть из семейства R2R3-MYB, три из bHLH-MYC и три из WD40 (Mikhailova et al., 2022). Вследствие высокой структурной консервативности и строгого очищающего отбора, действующего на гены *WD40*, они являются менее информативными для анализа эволюционной дивергенции. В связи с этим в настоящей работе для оценки давления отбора на дуплицированные копии регуляторных генов биосинтеза флавоноидов был проведён сравнительный анализ нуклеотидного полиморфизма аллелей – представителей семейств R2R3-MYB и bHLH-MYC у образцов хлопчатника, контрастных по окраске волокна.

## Материалы и методы

В качестве материала для исследования были использованы образцы хлопчатника вида *G. hirsutum* L. с контрастной окраской волокна и гипокотилей из коллекции ВИР (таблица).

Одним из образцов был сорт ‘Браун’ – первый зарегистрированный в России сорт хлопчатника с природно-окрашенным волокном: патент на селекционное достижение № 10638 (Tuz et al., 2023). Сорт получен методом индивидуального отбора из гибридной комбинации ‘Генетик 34’: Туркмения, позднеспелый, коричневое волокно, и С2 8101-73: к-8112, Албания, скороспелый, белое волокно.

Геномную ДНК выделяли из 10-12-дневных гипокотилей проростков хлопчатника по 10 растений каждого образца с использованием набора DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, Germany) по протоколу, рекомендованному производителем. Качество и концентрацию ДНК оценивали методом электрофореза в агарозном геле, а также с помощью спектрофотометрического анализа. Дизайн праймеров, специфичных к целевым фрагментам полноразмерных генов, осуществляли с помощью онлайн-инструмента IDT PrimerQuest software (http://eu.idtdna.com/PrimerQuest/Home/). Последовательности олигонуклеотидов для полимеразной цепной реакции (ПЦР), исполь-

**Таблица. Список изученных образцов хлопчатника *Gossypium hirsutum* L. коллекции ВИР**

**Table. The studied *Gossypium hirsutum* L. accessions from the VIR collection**

| № п/п/ No. | № по каталогу ВИР/ VIR catalogue No. | Название образца/ Accession name | Происхождение/ Origin | Год включения в коллекцию/ Year of registration in the collection | Окраска гипокотиля/ Hypocotyl color | Окраска волокна/ Fiber color |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | к-7544* | Cm-Sp 6189 | Мадагаскар | 1986 | Зелёная | Темно-бурая |
| 2 | к-7544* | Cm-Sp 6189 | Мадагаскар | 1986 | Антоциановая | Темно-бурая |
| 3 | к-8147* | 8/4 | Россия | 2022 | Зелёная | Темно-бурая |
| 4 | к-8161 | 37/4 | Россия | 2026 | Зелёная | Темно-бурая |
| 5 | к-4305* | S-4050 | Узбекистан | 1956 | Зелёная | Светло-бурая |
| 6 | к-8138* | Браун | Россия | 2020 | Зелёная | Светло-бурая |
| 7 | к-3488* | S-4017 | Узбекистан | 1947 | Зелёная | Светло-бурая |
| 8 | к-7314 | Poral 1-2 | Куба | 1984 | Зелёная | Светло-бурая |
| 9 | к-8129* | Red Stem | США | 2021 | Антоциановая | Белая |
| 10 | к-8020* | AC-4 | Россия | 2001 | Зелёная | Белая |
| 11 | к-7843 | M1, round leaf | Туркменистан | 1992 | Зелёная | Белая |
| 12 | к-467 | American cotton | Узбекистан | 1925 | Зелёная | Белая |

*аллельные различия последовательностей регуляторных генов описаны ранее/ allelic differences in regulatory gene sequences were characterized earlier (Mikhailova et al., 2024)

зованных в работе, представлены в Приложении 1/ Supplement[1]. Амплификацию геномной ДНК проводили в термоциклерах T-100 (Biorad, США) и SimpliAmp Plus (Thermo Fisher Scientific, США). Амплифицированные фрагменты элюировали из 1% агарозного геля с помощью набора реагентов «diaGene», согласно инструкции производителя («Диа-М», Россия). Очищенную ДНК-матрицу в количестве 50-70 нг использовали для секвенирующей реакции, которая протекала в 15 мкл смеси с добавлением 10 пмолей праймера, 1,5 мкл готовой реакционной смеси BigDye™ Terminator v3.1 и 3 мкл 5X секвенирующего буфера BigDye™ Terminator v3.1 (BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, США). Очистку продуктов реакции секвенирования от компонентов ПЦР-смеси проводили методом переосаждения этиловым спиртом. ДНК-фрагменты по размерам разделяли методом капиллярного электрофореза с помощью генетического анализатора Applied Biosystems 3500 (Thermo Fisher Scientific, США). Обработку полученных секвенограмм, в том числе оценку качества данных и выравнивание последовательностей на референсный геном, проводили с использованием программного обеспечения Ugene (http://ugene.net/ru/) и MEGA-X (Kumar et al., 2018). В качестве референса использовали последовательности беловолокнистого хлопчатника из базы данных Cotton FGD (https://cottonfgd.org/).

## Результаты и обсуждение

Проведенный ранее анализ *in silico* структурно-функциональной организации генов семейств R2R3-MYB и bHLH-MYC продемонстрировал сохранение экзон-интронной и доменной структур, отсутствие преждевременных стоп-кодонов (за исключением третьей паралогичной копии *GhTT2-A3*) (Mikhailova et al., 2022). По результатам анализа аллельных различий копий регуляторных генов из семейств R2R3-MYB и bHLH-MYC, у образцов хлопчатника с контрастной окраской волокна функционально значимые отличия выявлены только для гена *GhMYB10-A*, белковый продукт которого относится к классу ТФ, регулирующих поздние этапы биосинтеза метаболитов флавоноидного пути (Mikhailova et al., 2024; 2026).

В рамках настоящей работы впервые секвенированы последовательности основного гена-кандидата *GhMYB10-A* у образцов к-8161, к-7314, к-7843 и к-467. На примере выявленного нуклеотидного полиморфизма гомеологичных генов *GhTT2* и *GhMYB10* в субгеномах At и Dt рассмотрены особенности организации дуплицированных копий в аллотетраплоидном геноме хлопчатника. Последовательности генов 12 образцов (см. таблицу) впервые депонированы в международную базу данных GenBank (NCBI) под номерами: PZ542165-PZ542188, PZ555351-PZ555357, PZ561958-PZ561964, PZ562709-PZ562715, PZ562720-PZ562726, PZ564210-PZ564221, PZ564430-PZ564436.

**R2R3-MYB**. Паралогичные копии генов семейства

[1] Приложения доступны в онлайн версии статьи/ The supplements are available in the online version of the paper: DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o1

R2R3-MYB в субгеномах At и Dt содержат три экзона и составляют в длину: 1257 пн (*GhTT2-A1*), 1222 пн (*GhTT2-A2*), 1445 пн (*GhTT2-A3*), 1257 пн (*GhTT2-D1*), 1281 пн (*GhTT2-D2*), 1300 пн (*GhTT2-D3*), 1275 пн (*GhMYB10-A*) и 1292 пн (*GhMYB10-D*). В промоторной и кодирующей последовательностях паралогичных генов *GhTT2* в субгеноме At найдены многочисленные индели длиной от 1 до 32 пн, а также однонуклеотидные замены. В конце третьего экзона гена *GhTT2-A1* у образцов с тёмно-бурой окраской волокна (к-8147, к-7544) и у образца со светло-бурой окраской (к-4305) выявлена несинонимичная замена C→A в позиции 1070 пн (Приложение 2/ Supplement 2; Mikhailova et al., 2024). Данная замена не затрагивает консервативный R3-мотив MYB-домена и приводит к аминокислотной замене пролина на треонин в последовательности белка. Согласно выявленному полиморфизму аллелей гена *GhTT2-A2*, образцы могут быть разделены на две группы: первая – к-8147, к-7544, к-4305, вторая – к-3488, к-8020, к-8129 (Приложение 3/ Supplement 3). Образцы первой группы отличает уникальный однонуклеотидный полиморфизм C→G в положении 922 пн от начала транскрипции, который приводит к замене кодона GCA на GGA и, соответственно, аминокислотного остатка аланина на глицин в белке.

В промоторной области гена *GhTT2-A3* (от 746 до 81 пн относительно старт-кодона) полиморфизм оказался идентичным у большинства образцов за исключением к-3488, к-8020 и к-8129, у которых в позиции 162 пн обнаружена вставка цитозина; у образца к-8129 отсутствовали делеции длиной 33 и 8 пн в положениях 726 и 88 пн соответственно (Приложение 4/ Supplement 4). В кодирующей и 3'-нетранслируемой областях все образцы соответствовали референсу, за исключением синонимичной замены T→C в положении 542 пн третьего экзона (R3-мотив) и делеции длиной 127 пн, приводящей к сдвигу рамки считывания, формированию преждевременного стоп-кодона TGA и уменьшению длины аминокислотной последовательности с 294 до 157 ао. Такие изменения, как правило, сопровождаются частичной или полной утратой функциональной активности белка (Léon-Kloosterziel et al., 1996; Nesi et al., 2000; Baudry et al., 2006; Mikhailova et al., 2024).

Стоит отметить, что и аллельный вариант *GhTT2-A3* референса также имеет преждевременный стоп-кодон TAG, что указывает на вероятную псевдогенизацию данной копии – процесс, характерный для избыточных дуплицированных генов со средним временем формирования порядка 3-7 млн лет (Lynch, Conery, 2000). С учетом того, что окрашенное волокно является предковым признаком для рода *Gossypium* L., а беловолокнистые формы закрепились в ходе доместикации, и того, что дупликация регуляторных генов *GhTT2* и *GhTT8* в субгеномах At и Dt произошла до образования аллотетраплоидной формы, обнаруженный аллельный вариант *GhTT2-A3* меньшей длины, вероятно, является результатом псевдогенизации, произошедшей у диплоидного донора A-генома еще до аллополиплоидизации (Stephens et al., 1977).

В последовательности *GhTT2-D1* не найдено значимых полиморфных вариантов, за исключением ряда инсерций в конце третьего экзона: -/A (966 пн), -/G (980 пн), -/CAA (1027 пн), для которых также не обнаружено взаимосвязи с окраской волокна (Приложение 5/ Supplement 5). Во втором интроне гена *GhTT2-D2* у образцов к-7522 с темно-бурой окраской волокна, к-8020 с белой и двух со светло-бурой (к-3488 и к-4305) в положениях 434, 450 и 453 пн выявлены замены A→G, A→C и T→C соответственно, а также делеция TC в положении 436 пн от старт-кодона ATG (Приложение 6/ Supplement 6). Для остальных изучаемых образцов отличий от референсной последовательности не выявлено. Последовательности *GhTT2-D3* и *GhMYB10-D* у всех рассматриваемых образцов соответствовали референсу (Приложения 7, 9/ Supplements 7, 9).

У образцов со светло-бурой окраской волокна (к-4305, к-3488, к-8129, к-7314) обнаружена вставка длиной 46 пн в промоторной области гена *GhMYB10-A*, а также две несинонимичные замены, приводящие к миссенс-мутациям Лиз26Тре и Трп37Арг в последовательности консервативного функционального R2-мотива MYB-домена (Приложение 8/ Supplement 8). Замена высоко консервативного остатка триптофана в положении 37 дестабилизирует структуру "спираль-петля-спираль", что, вероятно, снижает ДНК-связывающую активность этого ТФ у образцов со светло-бурой окраской волокна (Kanei-Ishii et al., 1990; Saikumar et al., 1990; Mikhailova et al., 2024). Эти данные позволяют рассматривать *GhMYB10-A* в качестве наиболее перспективного гена-кандидата, ассоциированного с вариабельностью окраски волокна в изучаемой выборке.

Обнаруженный полиморфизм в последовательности регуляторных генов семейства R2R3-MYB демонстрирует асимметрию между субгеномами: гомеологи субгенома At характеризуются большим числом замен в нуклеотидной последовательности (как в промоторном, так и в экзон-интронных регионах) по сравнению с референсом, чем гомеологи субгенома Dt. Асимметричную эволюцию генов семейства R2R3-MYB у хлопчатника, при которой субгеном At эволюционирует быстрее и подвергается менее строгому очищающему отбору по сравнению с субгеномом Dt, отмечали и в более ранних исследованиях (Zhang et al., 2015; Wang et al., 2019). Аналогичное влияние направленного отбора на скорость накопления замен в последовательностях регуляторных генов семейства R2R3-MYB наблюдали ранее у малины черной *Rubus occidentalis* L., которая подобно хлопчатнику была подвергнута недавнему направленному отбору (Liu et al., 2019).

Данная закономерность, вероятно, отражает разное давление отбора на субгеномы в процессе направленной селекции по определенным хозяйственно ценным признакам. Поскольку субгеном At, унаследо-

ванный от афро-азиатских видов, близких к *G. arboreum* и *G. herbaceum*, детерминирует развитие волокна и урожайность в ходе доместикации, именно он подвергался интенсивному направленному отбору, в том числе по признакам, связанным с качеством волокна и его пигментацией. В свою очередь, субгеном Dt, происходящий от американских видов, близких к *G. raimondii*, в большей степени ассоциирован с адаптивными признаками: устойчивостью к засухе, вредителям и другим абиотическим стрессовым факторам и в меньшей степени был подвергнут отбору по признакам волокна, сохранив консервативный характер изменений с меньшим количеством фиксированных эволюционных замен (Shim et al., 2018).

На текущий момент большинство идентифицированных регуляторных генов-кандидатов, ассоциированных с вариабельностью по признаку окраски волокна, локализованы в субгеноме At *G. hirsutum*. Так, локусы *Lc1* (выделен ген *GhTT2-A1*, R2R3-MYB) и *qBF-A07-2* (*Gh_A07G0100*, WD40) картированы в хромосоме A07, *Lc2* – в A06 (Wang et al., 2014; Hinchliffe et al., 2016; Wen et al., 2018).

Кроме того, у хлопчатника асимметрия между субгеномами выражается в разном тканеспецифичном и органоспецифичном характере экспрессии гомеологов. Согласно исследованию L. Flagel с соавторами, около 24% гомеологичных генов аллополиплоидных видов хлопчатника приобрели асимметричный характер экспрессии непосредственно в момент гибридизации предковых видов (Flagel et al., 2008). Так, среди четырех гомеологов структурного гена *GhDFR* у *G. hirsutum* в хромосомах A05/D05 и A06/D06, ген *GhDFR1* (A05) экспрессируется преимущественно в волокне, тогда как *GhDFR3* (A06) – в лепестках (Zheng et al., 2023). Это указывает на то, что дуплицированные копии даже в рамках одного субгенома могут приобретать субфункционализацию, проявляя транскрипционную активность в разных типах тканей.

Органоспецифичный характер смещения относительного уровня экспрессии гомеологов отмечен для некоторых генов хлопчатника. Например, ген *adhA* (alcohol dehydrogenase, ADH), локализованный в субгеноме Dt *G. hirsutum*, экспрессировался исключительно в лепестках и тычинках (100% транскриптов), тогда как в пестиках максимальное число транскриптов было зарегистрировано для гомеолога в субгеноме At (Adams et al., 2003). Содержание мРНК гена *adhD* превышало 80% в листьях, корнях, стебле, лепестках и плодолистиках, тогда как в тычинках преобладали транскрипты субгенома At. Данный характер экспрессии является классическим примером реципрокного органоспецифичного сайленсинга, подавления экспрессии, лежащего в основе субфункционализации гомеологичных генов после гибридизации диплоидных предков.

Реципрокный сайленсинг *adhA* зафиксирован и у синтетического аллополиплоида *Arabidopsis suecica* (Fr.) Norrl., полученного в результате гибридизации *A. thaliana* (2n=10) и *Arabidopsis arenosa* L. (2n=32) (Comai et al., 2000). Так, подавлению экспрессии подверглись гены *K7* (характеризуется высокой копийностью у *A. arenosa* и низкой у *A. thaliana*), и *L6* (метилирован у *A. arenosa* и гипометилирован у *A. thaliana*), происходящие из субгенома *A. arenosa*. Одновременно подавлена экспрессия гена *K9*, иначе *RAP2.1*, относящегося к семейству *APETALA2*, унаследованного от *A. thaliana*, в регуляторной области которого выявлен повторяющийся элемент. В целом исследования новообразованных геномов аллополиплоидов *Gossypium* и других синтетических модельных объектов демонстрируют их высокую пластичность и динамичность. Они представляют собой не просто «удвоенные диплоиды», а уникальные, вновь образовавшиеся организмы с высоким эволюционным и адаптивным потенциалом (Wendel, 2000; Liu, Wendel, 2002).

**bHLH-MYC**. Дуплицированные копии генов семейства bHLH-MYC в субгеномах At и Dt содержат восемь экзонов и составляют в длину: 4251 пн (*GhTT8-A1*), 6816 пн (*GhTT8-A2*), 5139 пн (*GhTT8-D1*) и 6850 пн (*GhTT8-D2*). У образцов хлопчатника с темно-бурой окраской волокна (к-8147, к-7544 и к-8129) последовательности гомеологичных и гомологичных копий генов *GhTT8-A1/A2/D1/D2*, а также *GhTT8-A1* соответствовали референсу (Приложения 10-13/ Supplements 10-13). В промоторной последовательности генов *GhTT8-D1* и *GhTT8-D2* найдены отличия только для образцов к-4305, к-3488 со светло-бурым волокном и к-8020 с белым соответственно (Mikhailova et al., 2024).

Анализ секвенированных последовательностей гомеологичных копий генов из семейств R2R3-MYB и bHLH-MYC показал, что промоторные области данных генов со времени дивергенции донорных видов субгеномов At и Dt от общего диплоидного предка рода *Gossypium* около 10 млн лет назад также сильно дивергировали (Wendel, 1989; Mikhailova et al., 2024). Как правило, наибольший вклад в процесс образования видов с новыми фенотипическими характеристиками вносят изменения в последовательности *цис*-регуляторных элементов, нежели мутации в кодирующих последовательностях генов (Wilson et al., 1974; Doebley, Lukens, 1998). Более того, однонуклеотидные замены в промоторных последовательностях могут влиять на способность связывания транскрипционных факторов с целевыми сайтами, приводя либо к увеличению сродства, либо к потере взаимодействий (Ponomarenko, 2001). Соответственно, выявленный нами полиморфизм промоторных последовательностей генов соответствует общепринятой гипотезе о большей вариабельности регуляторных областей, содержащих сайты связывания с транскрипционными факторами (Doebley, Lukens, 1998; Mitsis et al., 2020; Wheeler et al., 2022).

## Заключение

В результате секвенирования аллелей идентифицированных ранее регуляторных генов из семейств R2R3-MYB и bHLH-MYC у хлопчатника не выявлено функционально значимых аллельных отличий, за исключением аллельного варианта гена *GhMYB10-A* только у образцов со светло-бурой окраской волокна. При этом дивергенции в большей степени подверглись последовательности регуляторных генов субгенома At из семейства R2R3-MYB, нежели гомеологи в субгеноме Dt. Это может отражать как исторически более высокую пластичность регуляторных регионов генов в субгеноме At, так и асимметричное давление отбора в ходе доместикации. Тем не менее, вклад гомеологов субгенома Dt нельзя исключать: некоторые из них могут сохранять транскрипционную активность в других тканях или участвовать в компенсаторной регуляции при инактивации копий в субгеноме At. Понимание особенностей организации генома хлопчатника важно для реализации подходов к генетическому анализу в области частной генетики этой культуры, в том числе при изучении системы генов биосинтеза пигментов флавоноидной природы.

## References/Литература


Adams K.L., Cronn R., Percifield R., Wendel J.F. Genes duplicated by polyploidy show unequal contributions to the transcriptome and organ-specific reciprocal silencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2003;100(8):4649-4654. DOI: 10.1073/pnas.0630618100

Baudry A., Caboche M., Lepiniec L. TT8 controls its own expression in a feedback regulation involving TTG1 and homologous MYB and bHLH factors, allowing a strong and cell-specific accumulation of flavonoids in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*. 2006;46(5):768-779. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2006.02733.x

Baudry A., Heim M.A., Dubreucq B., Caboche M., Weisshaar B., Lepiniec L. TT2, TT8, and TTG1 synergistically specify the expression of *BANYULS* and proanthocyanidin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana. The Plant Journal*. 2004;39(3):366-380. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2004.02138.x

Comai L., Tyagi A.P., Winter K., Holmes-Davis R., Reynolds S.H., Stevens Y., Byers B. Phenotypic instability and rapid gene silencing in newly formed *Arabidopsis* allotetraploids. *The Plant Cell*. 2000;12(9):1551-1567. DOI: 10.1105/tpc.12.9.1551

Doebley J., Lukens L. Transcriptional regulators and the evolution of plant form. *The Plant Cell.* 1998;10(7):1075-1082. DOI: 10.1105/tpc.10.7.1075

Flagel L., Udall J., Nettleton D., Wendel J. Duplicate gene expression in allopolyploid *Gossypium* reveals two temporally distinct phases of expression evolution. *BMC Biology*. 2008;6:16. DOI: 10.1186/1741-7007-6-16

Force A., Lynch M., Pickett F.B., Amores A., Yan Y.L., Postlethwait J. Preservation of duplicate genes by complementary, degenerative mutations. *Genetics*. 1999;151(4):1531-1545. DOI: 10.1093/genetics/151.4.1531

Gonzalez A., Zhao M., Leavitt J.M., Lloyd A.M. Regulation of the anthocyanin biosynthetic pathway by the TTG1/bHLH/MYB transcriptional complex in *Arabidopsis* seedlings. *The Plant Journal.* 2008;53(5):814-827. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2007.03373.x

Gould K., Lister C. Flavonoid functions in plants. In: *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*. *CRC Press*; 2005. p.397-441. DOI: 10.1201/9781420039443.ch8

Hinchliffe D.J., Condon B.D., Thyssen G., Naoumkina M., Madison C.A., Reynolds M., Delhom C.D., Fang D.D., Li P., McCarty J. The *GhTT2_A07* gene is linked to the brown colour and natural flame retardancy phenotypes of *Lc1* cotton (*Gossypium hirsutum* L.) fibres. *Journal of Experimental Botany*. 2016;67(18):5461-5471. DOI: 10.1093/jxb/erw312

Humphries J.A., Walker A.R., Timmis J.N., Orford S.J. Two WD-repeat genes from cotton are functional homologues of the *Arabidopsis thaliana TRANSPARENT TESTA GLABRA1* (*TTG1*) gene. *Plant Molecular Biology*. 2005;57(1):67-81. DOI: 10.1007/s11103-004-6768-1

Kanei-Ishii C., Sarai A., Sawazaki T., Nakagoshi H., He D.N., Ogata K., Nishimura Y., Ishii S. The tryptophan cluster: a hypothetical structure of the DNA-binding domain of the MYB protooncogene product. *Journal of Biological Chemistry*. 1990;265(32):19990-19995. DOI: 10.1016/S0021-9258(17)45472-X

Katiyar A., Smita S., Lenka S., Rajwanshi R., Chinnusamy V., Bansal K. Genome-wide classification and expression analysis of MYB transcription factor families in rice and *Arabidopsis*. *BMC Genomics*. 2012;13(1):544. DOI: 10.1186/1471-2164-13-544

Koes R., Verweij W., Quattrocchio F. Flavonoids: a colorful model for the regulation and evolution of biochemical pathways. *Trends in Plant Science*. 2005;10(5):236-242. DOI: 10.1016/j.tplants.2005.03.002

Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution.* 2018;35(6):1547-1549. DOI: 10.1093/molbev/msy096

Leitch A.R., Leitch I.J. Genomic plasticity and the diversity of polyploid plants. *Science*. 2008;320(5875):481-483. DOI: 10.1126/science.1153585

Léon-Kloosterziel K.M., van de Bunt G.A., Zeevaart J.A., Koornneef M. *Arabidopsis* mutants with a reduced seed dormancy. *Plant Physiology*. 1996;110(1):233-240. DOI: 10.1104/pp.110.1.233

Liu B., Wendel J.F. Non-Mendelian phenomena in allopolyploid genome evolution. *Current Genomics.* 2002;3:489-505. DOI: 10.2174/1389202023350255

Liu H., Xiong J.-S., Jiang Y.-T., Wang L., Cheng Z.-M. Evolution of the R2R3-MYB gene family in six *Rosaceae* species and expression in woodland strawberry. *Journal of Integrative Agriculture*. 2019;18(12):2753-2770. DOI: 10.1016/S2095-3119(19)62818-2

Lu Q., Shi Y., Xiao X., Li P., Gong J., Gong W., Liu A., Shang H., Li J., Ge Q., Song W., Li S., Zhang Z., Rashid M.H.O., Peng R., Yuan Y., Huang J. Transcriptome analysis suggests that chromosome introgression fragments from sea island cotton (*Gossypium barbadense*) increase fiber strength in upland cotton (*Gossypium hirsutum*). *G3: Genes, Genomes, Genetics*. 2017;7(10):3469-3479. DOI: 10.1534/g3.117.300108

Lynch M., Conery J.S. The evolutionary fate and consequences of duplicate genes. *Science*. 2000;290(5494):1151-1155. DOI: 10.1126/science.290.5494.1151

Magadum S., Banerjee U., Murugan P., Gangapur D., Ravikesavan R. Gene duplication as a major force in evolution. *Journal of Genetics*. 2013;92(1):155-161. DOI: 10.1007/s12041-013-0212-8

Mikhailova A., Strygina K., Khlestkina E. *In silico* analysis of the regulatory gene families for proanthocyanidins biosynthesis in the genus *Gossypium* L. *Turkish Journal of* Agriculture *and Forestry*. 2022;46(5):11. DOI: 10.55730/1300-011X.3039

Mikhailova A.S., Shvachko N.A., Podolnaya L.P., Brutch N.B., Khlestkina E.K. Candidate Genes for Brown Fiber in Cotton Revealed Among the *R2R3-Myb* and *bHLH-Myc* Gene Families. *Journal of Natural Fibers.* 2024;21(1):2399930. DOI: 10.1080/15440478.2024.2399930

Mikhailova A.S., Podolnaya L.P., Khlestkina E.K. Expression of phenylpropanoid and flavonoid pathway genes in naturally colored cotton during late fiber development. *Plant Research.* 2026;1:100005. DOI: 10.1016/j.plares.2026.100005

Mitsis T., Efthimiadou A., Bacopoulou F., Vlachakis D., Chrousos G., Eliopoulos E. Transcription factors and evolution: An integral part of gene expression (Review). *World Academy of Sciences Journal.* 2020;2(1):3-8. DOI: 10.3892/wasj.2020.32

Nesi N., Debeaujon I., Jond C., Pelletier G., Caboche M., Lepiniec L. The *TT8* gene encodes a basic Helix-Loop-Helix domain protein required for expression of *DFR* and *BAN* genes in *Arabidopsis* siliques. *The Plant Cell.* 2000;12(10):1863-1878. DOI: 10.1105/tpc.12.10.1863

Otto S.P., Whitton J. Polyploid incidence and evolution. *Annual Review of Genetics*. 2000;34(1):401-437. DOI: 10.1146/annurev.genet.34.1.401

Peng Q.-Z., Zhu Y., Liu Z., Du C., Li K.G., Xie D.Y. An integrated approach to demonstrating the ANR pathway of proanthocyanidin biosynthesis in plants. *Planta*. 2012;236(3):901-918. DOI: 10.1007/s00425-012-1670-6

Ponomarenko J.V. ACTIVITY: a database on DNA/RNA sites activity adapted to apply sequence-activity relationships from one system to another. *Nucleic Acids Research*. 2001;29(1):284-287. DOI: 10.1093/nar/29.1.284

Rausher M.D., Miller R.E., Tiffin P. Patterns of evolutionary rate variation among genes of the anthocyanin biosynthetic pathway. *Molecular Biology and Evolution*. 1999;16(2):266-274. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a026108

Renny-Byfield S., Wendel J.F. Doubling down on genomes: polyploidy and crop plants. *American Journal of Botany*. 2014;101(10):1711-1725. DOI: 10.3732/ajb.1400119

Rutland C.A., Hall N.D., McElroy J.S. The impact of polyploidization on the evolution of weed species: historical understanding and current limitations. *Frontiers in Agronomy.* 2021;3:1-12. DOI: 10.3389/fagro.2021.626454

Saikumar P., Murali R., Reddy E.P. Role of tryptophan repeats and flanking amino acids in MYB-DNA interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1990;87(21):8452-8456. DOI: 10.1073/pnas.87.21.8452

Saito K., Yonekura-Sakakibara K., Nakabayashi R., Higashi Y., Yamazaki M., Tohge T., Fernie A.R. The flavonoid biosynthetic pathway in *Arabidopsis*: structural and genetic diversity. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2013;72:21-34. DOI: 10.1016/j.plaphy.2013.02.001

Shim J., Mangat P.K., Angeles-Shim R.B. Natural variation in wild *Gossypium* species as a tool to broaden the genetic base of cultivated cotton. *Journal of Plant Sciences and Current Research.* 2018;2:005. DOI: 10.24966/PSCR-3743/100005

Shoeva O.Y., Glagoleva A.Y., Khlestkina E.K. The factors affecting the evolution of the anthocyanin biosynthesis pathway genes in monocot and dicot plant species. *BMC Plant Biology*. 2017;17(Suppl 2):256. DOI: 10.1186/s12870-017-1190-4

Stephens S.G. Seed fibre colour in *Gossypium* and its possible significance in the evolution of domesticated cottons. *Journal of Genetics.* 1977;63:63-78. DOI: 10.1007/BF02984277

Tuz R.K., Asfandiiarova M.S., Podolnaya L.P. 'Braun': the first Russian cotton cultivar with naturally colored fiber. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2023;184(1):154-162. [in Russian] (Туз К.З., Асфандиярова М.Ш., Подольная Л.П. 'Браун' – первый российский сорт хлопчатника с природно-окрашенным волокном. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2023;184(1):154-162). DOI: 10.30901/2227-8834-2023-1-154-162

Walker A.R., Davison P.A., Bolognesi-Winfield A.C., James C.M., Srinivasan N., Blundell T.L., Esch J.J., Marks M.D., Gray J.C. The TRANSPARENT TESTA GLABRA1 Locus, which regulates trichome differentiation and anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis*, encodes a WD40 repeat protein. *The Plant Cell*. 1999;11(7):1337. DOI: 10.2307/3870753

Wang L., Liu H., Li X., Xiao X., Ai X., Luo C., Zhu L., Li X. Genetic mapping of fiber color genes on two brown cotton cultivars in Xinjiang. *Springer Plus.* 2014;3(1):480. DOI: 10.1186/2193-1801-3-480

Wang N., Ma Q., Ma J., Pei W., Liu G., Cui Y., Wu M., Zang X., Zhang J., Yu S., Ma L., Yu J. A comparative Genome-Wide Analysis of the R2R3-MYB Gene family among four *Gossypium* species and their sequence variation and association with fiber quality traits in an interspecific *G. hirsutum* × *G. barbadense* population. *Frontiers in Genetics.* 2019;10:741. DOI: 10.3389/fgene.2019.00741

Wen T., Wu M., Shen C., Gao B., Zhu D., Zhang X., You C., Lin Z. Linkage and association mapping reveals the genetic basis of brown fibre (*Gossypium hirsutum*). *Plant Biotechnology Journal.* 2018;16(9):1654-1666. DOI: 10.1111/pbi.12902

Wendel J.F. New world tetraploid cottons contain old-world cytoplasm. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1989;86(11):4132-4136. DOI: 10.1073/pnas.86.11.4132

Wendel J.F. Genome evolution in polyploids. *Plant Molecular Biology.* 2000;42(1):225-249. DOI: 10.1023/A:1006392424384

Wheeler L.C., Walker J.F., Ng J., Deanna R., Dunbar-Wallis A., Backes A., Pezzi P.H., Palchetti M.V., Robertson H.M., Monaghan A., de Freitas L.B., Barboza G.E., Moyroud E., Smith S.D. Transcription factors evolve faster than their structural gene targets in the flavonoid pigment pathway. *Molecular Biology and Evolution.* 2022;39(3):1-33. DOI: 10.1093/molbev/msac044

Wilson A.C., Maxson L.R., Sarich V.M. Two types of molecular evolution. Evidence from studies of interspecific hybridization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 1974;71(7):2843-2847. DOI: 10.1073/pnas.71.7.2843

Winkel-Shirley B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology*. 2001;126(2):485-493. DOI: 10.1104/pp.126.2.485

Yan Q., Wang Y., Li Q., Zhang Z., Ding H., Zhang Y., Liu H., Luo M., Liu D., Song W., Liu H., Yao D., Ouyang X., Li Y., Li X., Pei Y., Xiao Y. Up-regulation of *GhTT2-3A* in cotton fibres during secondary wall thickening results in brown fibres with improved quality. *Plant Biotechnology Journal*. 2018;16(10):1735-1747. DOI: 10.1111/pbi.12910

Zhang T., Hu Y., Jiang W., Fang L., Guan X., Chen J., Zhang J., Saski C.A., Scheffler B.E., Stelly D.M., Hulse-Kemp A.M., Wan Q., Liu B., Liu C., Wang S., Pan M., Wang Y., Wang D., Ye W., Chang L., Zhang W., Song Q., Kirkbride R.C., Chen X., Dennis E., Llewellyn D.J., Peterson D.G., Thaxton P., Jones D.C., Wang Q., Xu X., Zhang H., Wu H., Zhou L., Mei G., Chen S., Tian Y., Xiang D., Li X., Ding J., Zuo Q., Tao L., Liu Y., Li J., Lin Y., Hui Y., Cao Z., Cai C., Zhu X., Jiang Z., Zhou B., Guo W., Li R., Chen Z.J. Sequencing of allotetraploid cotton (*Gossypium hirsutum* L. acc. TM-1) provides a resource for fiber improvement. *Nature Biotechnology.* 2015;33(5):531-537. DOI: 10.1038/nbt.3207

Zheng H., Jiao J., Niu Q., Zhu N., Huang Y., Ke L., Tang S., Liu H., Sun Y. Cloning and functional analysis of *GhGHDFR1*, a key gene of flavonoid synthesis pathway in naturally colored cotton. *Molecular Biology Reports*. 2023;50(6):4865-4873. DOI: 10.1007/s11033-023-08420-6

## *Информация об авторах*

**Александра Сергеевна Михайлова,** 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, a.mikhailova@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0003-4565-1539

**Елена Константиновна Хлесткина,** доктор биологических наук, член-корреспондент 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

## *Information about the authors*

**Aleksandra S. Mikhailova,** 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, a.mikhailova@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0003-4565-1539

**Elena K. Khlestkina,** Dr. Sci. (Biology), Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, 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

***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 09.06.2026; одобрена после рецензирования 22.06.2026; принята к публикации 12.07.2026.
The article was submitted on 09.06.2026; approved after reviewing on 22.06.2026; accepted for publication on 12.07.2026.

**Краткое сообщение**
**УДК 634.11:632.3**
**DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o2**

(cc) BY

# Использование молекулярных маркеров генов устойчивости к мучнистой росе и бактериальному ожогу для скрининга коллекции сортов яблони института «Жигулёвские сады»

**И. Н. Шамшин[1], М. И. Дулов[2]**

[1] Мичуринский государственный аграрный университет, Мичуринск, Россия

[2] Научно-исследовательский институт садоводства и лекарственных растений «Жигулёвские сады», Самара, Россия

***Автор, ответственный за переписку:*** Иван Николаевич Шамшин, ivan_shasmhin@mail.ru

Для создания устойчивых к заболеваниям сортов яблони требуется поиск источников генов резистентности и вовлечение их в селекционную работу. Проведена идентификация генов устойчивости к мучнистой росе и бактериальному ожогу у семи осенних и 18 зимних сортов яблони селекции НИИ «Жигулёвские сады». Использованы молекулярные маркеры AE10-375 и GE-8019 QTL FBF7 устойчивости к бактериальному ожогу, а также кодоминантный маркер AT20 SCAR (ген *Pl-1*), доминантные маркеры EM DM01 (ген *Pl-d*) и EM M02 (ген *Pl-w*) устойчивости к мучнистой росе. Установлено, что гены *Pl-1*, *Pl-w* и *Pl-d* устойчивости к мучнистой росе в генотипе анализируемых сортов яблони отсутствуют. Показано, что хотя бы один из маркеров устойчивости к бактериальному ожогу, AE10-375 и/или GE-8019 QTL FBF7, присутствует в генотипе 80% анализируемых сортов. Маркер AE10-375 идентифицирован у 10 сортов, маркер GE-8019 у 18 сортов, то есть частота встречаемости маркера GE-8019 у анализируемых сортов яблони в 1,8 раза больше, чем маркера AE10-375. Сорта ‘Спартанец’, ‘Самарский Сувенир’, ‘Самарчанин’, ‘Скиф’, ‘Кутузовец’, ‘Самара’, ‘Спартак’, ‘Князь Засекин’ содержат в одном генотипе два маркера и являются потенциальными источниками устойчивости к бактериальному ожогу, которые могут быть использованы в качестве исходных форм при создании сортов яблони с повышенной адаптивностью к абиотическим и биотическим стресс-факторам для условий Поволжья.

***Ключевые слова*:** яблоня, мучнистая роса, бактериальный ожог, *Pl-1, Pl-w, Pl-d*, QTL FBF7

***Благодарности:*** исследования выполнены в рамках государственного задания FESU-2026-0003 по теме «Разработка эффективных методических приемов ускоренного селекционного процесса клоновых подвоев яблони на основе отдаленной гибридизации, экспериментальной полиплоидии и современных агробиотехнологий» (регистрационный номер в ЕГИСУ НИОКТР 1025120500162-9-4.4.1)

***Для цитирования:*** Шамшин И.Н., Дулов М.И. Использование молекулярных маркеров генов устойчивости к мучнистой росе и бактериальному ожогу для скрининга коллекции сортов яблони института «Жигулёвские сады». *Биотехнология и селекция растений*. 2026;9(3):100-108. DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o2

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

© Шамшин И.Н., Дулов М.И., 2026

**Brief communication**
**DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o2**

# Using molecular markers of powdery mildew and fire blight resistance genes for screening the apple cultivar collection of the "Zhiguli Gardens" Institute

**Ivan N. Shamshin[1], Mikhail I. Dulov[2]**

[1] Michurinsk State Agrarian University, Michurinsk, Russia

[2] Scientific Research Institute of Horticulture and Medicinal Plants "Zhiguli Gardens", Samara, Russia

***Corresponding author:*** Ivan N. Shamshin, ivan_shasmhin@mail.ru

To create apple cultivars persistent to diseases, it is necessary to search for the sources of resistance genes and involve them in breeding work. Identification of genes for resistance to powdery mildew and fire blight using molecular markers was carried out in seven autumn and 18 winter apple cultivars bred at the "Zhiguli Gardens" Scientific Research Institute. The AE10-375 and GE-8019 QTL FBF7 bacterial fire blight resistance markers, AT20 SCAR (*Pl-1* gene) codominant marker, EM DM01 (*Pl-d* gene) and EM M02 (*Pl-w* gene) dominant powdery mildew resistance markers were used in this study. It was established that the *Pl-1*, *Pl-w* and *Pl-d* powdery mildew resistance genes are absent from the genotypes of the analyzed apple cultivars. It was demonstrated that at least one of the fire blight resistance markers, AE10-375 and/or GE-8019, is present in the genotypes of 80% of the analyzed cultivars. The marker AE10-375 was identified in 10 cultivars, and GE-8019 in 18 cultivars, i.e. the frequency of occurrence of GE-8019 in the analyzed apple cultivars is 1.8 times higher than that of AE10-375. The cultivars 'Spartanets', 'Samarskiy Suvenir', 'Samarkand', 'Skif', 'Kutuzovets', 'Samara', 'Spartak' and 'Knyaz Zasekin' contain two markers in a single genotype and thus represent potential sources of fire blight resistance, which can be used as parental forms to develop apple cultivars with increased adaptability to abiotic and biotic stress factors in the conditions of the Volga Region.

***Keywords***: *Malus*, powdery mildew, bacterial fire blight, *Pl-1, Pl-w, Pl-d,* QTL FBF7

***Acknowledgements:*** the research was carried out within the framework of the state assignment FESU-2026-0003 on the topic "Development of effective methodological techniques for the accelerated breeding of clonal apple rootstocks based on distant hybridization, experimental polyploidy and modern agrobiotechnology" (Reg. under No. 1025120500162-9-4.4.1 in the Unified State Information System for Accounting of R&D Works)

***For citation:*** Shamshin I.N., Dulov M.I. Using molecular markers of powdery mildew and fire blight resistance genes for screening the apple cultivar collection of the "Zhiguli Gardens" Institute. *Plant Biotechnology and Breeding.* 2026;9(3):100-108. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o2

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

© Shamshin I.N., Dulov M.I., 2026

Плодовые семечковые культуры, такие как яблоня, груша и айва, относятся к числу наиболее значимых растений, возделываемых в России. По данным Федеральной службы государственной статистики в 2024 году площадь насаждений семечковых культур в хозяйствах всех категорий в стране составляла 219,7 тыс. га, в Самарской области – 5,0 тыс. га (RosStat, 2025). Яблоневые сады занимают наибольшие площади. В настоящее время самообеспеченность яблоками составляет по годам 87-90%, а к 2028 году Россия должна полностью себя обеспечивать плодами данной культуры. Выращивание яблони по интенсивным технологиям из-за высокой плотности расположения деревьев, как правило, приводит к большему распространению грибных и бактериальных болезней в саду, которые являются серьезной причиной увеличения потерь количества и качества урожая плодов. Для снижения распространения болезней яблони интенсивно используются пестициды. Это угрожает окружающей среде и здоровью потребителей, приводит к появлению новых устойчивых к химическим препаратам патогенных рас возбудителей болезней (Podgornaya, Fedorenko, 2014; Kashirskaya, Kochkina, 2020).

**Мучнистая роса** является одним из наиболее вредоносных и широко распространенным грибным заболеванием яблони. Грибной патоген *Podosphaera leucotricha* Salm зимует в виде мицелия в почках пораженных побегов, а весной споры гриба разносятся на молодые листья, побеги, цветки, бутоны и завязи яблони. Зараженные листья слабо развиваются, скручиваются и буреют, побеги замедляют рост, соцветия и цветки деформируются, что приводит к снижению урожая плодов (Urbanovich et al., 2010). Мучнистая роса снижает фотосинтетическую продуктивность листьев и устойчивость растений яблони к низким температурам в осенне-зимний период (Krasova et al., 2014). Мучнистая роса чаще всего наблюдается в молодых садах и питомниках. Благоприятные условия для развития патогена – положительная температура на уровне 18-25°C и высокая влажность воздуха или резкое её изменение. В Поволжье мучнистая роса на яблоне проявляется в слабой степени, поражение растений в среднем составляет 10-30%. Отмечено, что сухая, жаркая погода ослабляет тургор, ухудшает общее состояние деревьев яблони и снижает их устойчивость к мучнистой росе (Kochetkov, Slepkov, 2008). В последние годы в связи с потеплением климата, применением интенсивных технологий выращивания, загущением насаждений создаются благоприятные условия для развития патогена и повреждения яблони мучнистой росой. Для создания устойчивых сортов требуется поиск источников генов резистентности к мучнистой росе и вовлечение их в селекционную работу. Ранее были идентифицированы отдельные гены устойчивости к возбудителю болезни. Так ген *Pl-1* впервые обнаружен у дикорастущего вида *M.*×*robusta* (Carrière) Rehder, ген *Pl-2* идентифицирован у *M. zumi* Rehder (Knight, Alston, 1968), *Pl-w* у сорта ‘White Angel’ (Gallott et al., 1985; Simon, Weeden, 1991), *Pl-d* у гибридной формы D12 (Visser, Verhaegh, 1976) и *Pl-m* у гибрида MIS (Mildew immune selection) (Dayton, 1977). Ускорить поиск генов устойчивости можно с помощью молекулярных маркеров. Для большинства известных генов разработаны различные типы ДНК-маркеров. Так, например, для гена *Pl-1* разработан и валидирован SCAR-маркер OPAT20 (Markussen et al., 1995). Для генов *Pl-w* и *Pl-d* разработаны маркеры EM M01, EM M02 и EM DM01 соответственно (Evans, James, 2003; James et al., 2004). Эти маркеры были использованы для анализа генетических коллекций яблони как в России (Suprun et al., 2015; Lyzhin, Saveleva, 2020; Lyzhin, Savel’eva, 2021), так и за рубежом (Patzak et al., 2011; Amirchakhmaghi et al., 2018; Khankishieva, 2020; Höfer et al., 2021; Galymbek et al., 2025).

**Бактериальный ожог плодовых культур** является одним из наиболее вредоносных инфекционных заболеваний, наносящих значительный ущерб отрасли садоводства, (Drenova, 2019; Shamshin et al., 2025). Возбудитель заболевания – бактерия *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al. – ограниченно распространенный карантинный организм для стран Евразийского экономического союза (ЕАЭС) (Burnashev et al., 2025). В настоящее время карантинные фитосанитарные зоны установлены в 71 муниципальном районе 19 субъектов Российской Федерации. В 2024 году установлено семь новых таких зон на площади 71,1 тыс. га. Бактерия *E. amylovora* зимует под корой дерева и весной с наступлением теплой погоды она активно размножается, в результате чего происходит разрыв коры и на поверхности образуются капли молочно-белого или янтарно-желтого бактериального экссудата. Последний привлекает насекомых, которые во время опыления цветков невольно заражают много новых растений. Заражение происходит в течение всего периода вегетации, начиная с ранней весны и до поздней осени. Бактериальный ожог проявляется на цветках, побегах, ветвях и плодах. Цветки увядают и чернеют, листья свертываются, чернеют и остаются на ветвях, деревья имеют вид обожженных. На незрелых плодах появляются маслянистые красно-бурые или черно-бурые пятна, за короткое время охватывающие всю поверхность плода (Sadanov et al., 2023). В сильно зараженных садах это инфекционное заболевание способно поразить до 50% насаждений. Эффективных средств борьбы с бактериальным ожогом разработано недостаточно. В большинстве случаев используются антибиотики. Однако в большинстве стран, в том числе и в России, их применение запрещено. Предпочтительным способом борьбы с болезнью остается возделывание устойчивых форм яблони. На сегодняшний день выявлен ряд локусов (QTL, Quantitative Trait Loci), связанных с устойчивостью к бактериальному ожогу. Так, локус устойчивости QTL FBF7 был картирован на хромосоме VII у сорта яблони ‘Fiesta’ (Calenge et al., 2005). Наибольшее количество генетических факторов, ассоции-

рованных с механизмами устойчивости, выявлено у дикорастущих видов рода *Malus*. Например, на хромосоме III *M.*×*robusta* (Carrière) Rehder 'Robusta 5' (Peil et al., 2007; 2021), на хромосоме X *M. fusca* (Raf.) Schneid. (Emeriewen et al., 2014; 2019), на хромосоме XII у образцов 'Evereste,' *M. floribunda* Siebold ex Van Houtte 821 (Durel et al., 2009) и *M.*×*arnoldiana* (Rehder) Bean (Emeriewen et al., 2017). Для идентификации локуса FBF7 разработаны SCAR-маркеры AE10-375 и GE-8019, а также микросателлитный маркер CH-F7-Fb1 (Khan et al., 2007).

Ведущим научным учреждением в Среднем Поволжье, которое с 1931 года проводит научные исследования по селекции и изучению сортов яблони, является ГБУ СО НИИ «Жигулёвские сады». Учеными института созданы и переданы на государственное испытание на хозяйственную полезность 38 сортов яблони, из них 15 сортов включены в Государственный реестр сортов и гибридов сельскохозяйственных растений и рекомендованы для выращивания в Средневолжском и других регионах России. Ранее созданные и новые сорта яблони адаптированы для выращивания в условиях Среднего Поволжья. Кроме того, они успешно выращиваются и в более южных регионах страны. Поэтому актуальным является оценка устойчивости созданных сортов к мучнистой росе и бактериальному ожогу на молекулярном уровне.

**Исследования, посвященные идентификации генов устойчивости к мучнистой росе и бактериальному ожогу** у семи осенних и 18 зимних сортов яблони селекции института «Жигулёвские сады», проведены в лаборатории молекулярно-генетического анализа плодовых растений ФГБОУ ВО «Мичуринский государственный аграрный университет» с использованием молекулярных маркеров.

**ДНК выделяли из молодых листьев** с помощью CTAB-метода (Doyle, Doyle, 1990). Отбор образцов проводили с одного дерева. Для анализа генов устойчивости к мучнистой росе использовали следующие **ДНК-маркеры**: AT20-SCAR (ген *Pl-1*) (Markussen et al., 1995), EM DM01 (ген *Pl-d*) (James et al., 2004) и EM M02 (ген *Pl-w*) (Evans, James, 2003). Для анализа QTL FBF7 устойчивости к бактериальному ожогу использовали маркеры AE10-375 и GE-8019 (Khan et al., 2007). Праймеры синтезированы НПК «Синтол» (Россия). Последовательности пар праймеров и температуры отжига представлены в таблице 1. Амплификацию проводили на приборе SimpliAmp производства «Applied Biosystems» (США). Реакционная смесь для ПЦР объемом 25 мкл содержала 1 мкл геномной ДНК (концентрация 10 нг/мкл), 0,5 мкл прямого и обратного праймеров (концентрация 10 пмолей/мкл), 5 мкл ПЦР-микса (MasDD TaqMIX-2025) производства ЗАО «Диалат Лтд» (Россия), 18 мкл деионизированной воды.

**Таблица 1. Маркеры и нуклеотидные последовательности пар праймеров, используемых в работе**

**Table 1. Markers and nucleotide sequences of primer pairs used in the study**

| Маркер/ Marker | Последовательность/ Sequence (5' → 3') | Размер фрагмента, пн/ Fragment size, bp | Температура отжига, °C/ Annealing temperature, °C |
|---|---|---|---|
| AE10-375 | F CTAAGCGCACGTTCTCC<br>R CTGAAGCGCATCATTTCTGATAG | 375 | 55 |
| GE-8019 | F TTGAGACCGATTTTCGTGTG<br>R TCTCTCCCAGAGCTTCATTGT | 397 | 55 |
| AT20-SCAR | F ATCAGCCCCACATGAATCTCATACC<br>R ACATCAGCCCTCAAAGATGAGAAGT | 450/500 | 62 |
| EM DM01 | F AGGATAATAATCTATCTTGTAAAGG<br>R CCATTCAGCCCAACGAGT | 90 | 53 |
| EM M02 | F CTGCAGACTGTTTGTAAGTTGG<br>R AACTCCTTGATTTCTCCTATTGTT | 250 | 56 |

Для определения размера фрагментов использован маркер молекулярного веса GeneRuler 100 пн (Thermo Fisher Scientific, США).

Продукты амплификации разделяли путем электрофореза в 2% агарозном геле, окрашенном бромистым этидием. После электрофореза гель анализировали в ультрафиолетовом свете с использованием трансиллюминатора, его изображение получали с помощью цифровой фотокамеры.

В качестве положительных контролей устойчивости к мучнистой росе и бактериальному ожогу использовали сорта и виды яблони из коллекции Мичуринского ГАУ, у которых ранее были идентифицированы данные гены и QTL (Shamshin et al., 2023; Drenova et al., 2024).

**Наличие генов устойчивости к мучнистой росе *Pl-1*, *Pl-d* и *Pl-w*** устанавливали с помощью маркеров, ранее апробированных нами в изучении устойчивости клоновых подвоев яблони (Shamshin et al., 2023). Для идентификации гена *Pl-1* был использован кодоминантный маркер AT20-SCAR. В качестве положительного контроля использовали дикорастущий вид яблони

*Malus×robusta,* у которого впервые был выявлен данный ген. При проведении амплификации синтезируются два фрагмента размером 450 и 500 пн. Фрагмент, характеризующий устойчивый образец, имеет размер 450 пн (Markussen et al., 1995). Анализ результатов амплификации показал у всех образцов наличие фрагмента размером 500 пн, что говорит об отсутствии аллеля устойчивости в коллекции сортов (Приложение 1A/ Supplement 1A)[1]. Идентификацию гена *Pl-w* проводили с помощью сцепленного с ним SCAR-маркера EM M02 (Evans, James, 2003). Маркер позволяет идентифицировать доминантный аллель гена устойчивости. В качестве контрольного образца использовали сорт яблони ‘Эверест’. Наличие амплифицированного фрагмента размером 250 пн свидетельствует о присутствии гена в генотипе сорта. В ходе исследования установлено, что ожидаемый фрагмент идентифицируется только у контрольного образца. Остальные генотипы не имели данного фрагмента. Аналогичная картина наблюдается при анализе гена *Pl-d*. Ожидаемый размер продукта ПЦР составляет 90 пн (James et al., 2004). Однако он идентифицирован только у контрольного образца, которым служил клоновый подвой яблони 54-118 (Приложение 1B/ Supplement 1B).

Таким образом, результаты идентификации на молекулярном уровне показывают, что гены устойчивости к мучнистой росе в генотипах анализируемых сортов яблони селекции НИИ «Жигулёвские сады» отсутствуют. Одной из возможных причин этого является отсутствие целенаправленного отбора по устойчивости к возбудителю болезни. Этот факт подтверждает отсутствие данных по оценке полевой устойчивости к мучнистой росе для коллекционных образцов. Гены *Pl* интродуцированы в культурные сорта из дикорастущих видов яблони. Виды – источники генов устойчивости к мучнистой росе, а также производные от них генотипы, не были использованы в качестве исходного материала в селекционной работе НИИ «Жигулёвские сады». Из проведенных исследований следует, что для поиска источников генов *Pl* требуется расширение выборки сортов отечественной и зарубежной селекции, выращиваемых на территории Средневолжского и других регионов страны для проведения скрининга с использованием молекулярных маркеров.

**Идентификацию генов устойчивости к бактериальному ожогу** у сортов яблони проводили с использованием ранее разработанных SCAR-маркеров AE10-375 и GE-8019, фланкирующих локус QTL FBF7. Для маркера AE10-375 характерно наличие фрагмента 375 пн, а для GE-8019 – фрагмента 397 пн. В качестве положительного контроля использовали сорт яблони ‘Remo’, у которого ранее было показано наличие данных маркеров (Khan et al., 2007).

Для всех исследуемых нами сортов яблони получены четко воспроизводимые ПЦР-фрагменты как в случае SCAR-маркера AE10-375 (рисунок A), так и в случае маркера GE-8019 (рисунок B).

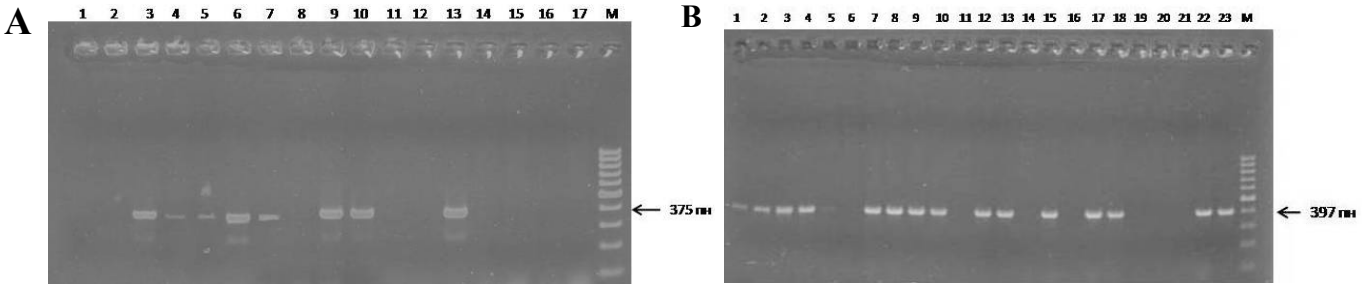



**Рисунок. Электрофореграммы продуктов амплификации маркеров генов устойчивости сортов яблони к бактериальному ожогу**

**A** – AE10-375; **B** – GE-8019

1 – ‘Азаровское’; 2 – ‘Буян’; 3 – ‘Спартанец’; 4 – ‘Самарский сувенир’; 5 – ‘Самарчанин’; 6 – ‘Синап самарский’; 7 – ‘Скиф’; 8 – ‘Красноглинское’; 9 – ‘Кутузовец’; 10 – ‘Самара’; 11 – ‘Память Королева’; 12 – ‘Сокское розовое’; 13A – ‘Remo’; 13B – ‘Спартак’; 14 – ‘Куйбышевское’; 15 – ‘Жигулевское’; 16 – ‘Подарок министру’; 17 – ‘Аркад волжский’; 18 – ‘Князь Засекин’; 19 – ‘Маяк Поволжья’; 20 – ‘Память Кедрина’; 21 – ‘Янтарь самарский’; 22 – ‘Данко’; 23 – ‘Remo’; M – маркер молекулярного веса ДНК GeneRuler 100 bp

**Figure. Electrophoregrams of amplification products of markers of fire blight resistance genes in apple cultivars**

**A** – AE10-375; **B –** GE-8019

1 – ‘Azarovskoe’; 2 – ‘Buyan’; 3 – ‘Spartanets’; 4 – ‘Samarskiy suvenir’; 5 – ‘Samarchanin’; 6 – ‘Sinap samarskiy’; 7 – ‘Skif’; 8 – ‘Krasnoglinskoye’; 9 – ‘Kutuzovets’; 10 – ‘Samara’; 11 – ‘Pamyat Koroleva’; 12 – ‘Sokskoye rozovoye’; 13 – ‘Remo’; 13B – ‘Spartak’; 14 – ‘Kuybyshevskoye’; 15 – ‘Zhigulevskoye’; 16 – ‘Podarok ministru’; 17 – ‘Arkad Volzhskiy’; 18 – ‘Knyaz Zasekin’; 19 – ‘Mayak Povolzhia’; 20 – ‘Pamyat Kedrina’; 21 – ‘Yantar samarskiy’; 22 – ‘Danko’; 23 – ‘Remo’; M – DNA molecular weight marker GeneRuler 100 bp

[1] Приложения доступны в онлайн версии статьи/ The supplements are available in the online version of the paper: DOI: 10.30901/2658-6266-2026-3-o2

Показано, что хотя бы один из двух изучаемых маркеров присутствует в генотипе каждого из 20 проанализированных сортов (табл. 2). Маркер AE10-375 идентифицирован у 10 сортов: ‘Спартанец’, ‘Самарский сувенир’, ‘Самарчанин’, ‘Синап Самарский’, ‘Скиф’, ‘Кутузовец’, ‘Самара’, ‘Спартак’, ‘Князь Засекин’, ‘Янтарь Самарский’. В случае маркера GE-8019 показано, что у 18 из 25 образцов обнаружен фрагмент ожидаемого размера. Его встречаемость у сортов яблони селекции НИИ «Жигулёвские сады» составляет в среднем 72%, что в 1,8 раза больше, чем маркера AE10-375. Нами показано, что сочетание двух маркеров в одном генотипе характерно для 8 из 25 сортов: ‘Спартанец’, ‘Самарский сувенир’, ‘Самарчанин’, ‘Скиф’, ‘Кутузовец’, ‘Самара’, ‘Спартак’, ‘Князь Засекин’.

**Таблица 2. Результаты идентификации QTL FBF7 устойчивости у сортов яблони селекции НИИ «Жигулёвские сады»**

**Table 2. Results of identification of FBF7 QTL for resistance in apple cultivars bred at the "Zhiguli Gardens" Scientific Research Institute**

| Сорт/ Cultivar | Маркеры/ Markers | | Сорт/ Cultivar | Маркеры/ Markers | |
|---|---|---|---|---|---|
| | AE10-375 | GE-8019 | | AE10-375 | GE-8019 |
| 1. ‘Азаровское’ | – | + | 14. ‘Куйбышевское’ | – | – |
| 2. ‘Буян’ | – | + | 15. ‘Жигулевское’ | – | + |
| 3. ‘Спартанец’ | + | + | 16. ‘Подарок Министру’ | – | – |
| 4. ‘Самарский сувенир’ | + | + | 17. ‘Аркад волжский’ | – | + |
| 5. ‘Самарчанин’ | + | + | 18. ‘Князь Засекин’ | + | + |
| 6. ‘Синап Самарский’ | + | – | 19. ‘Маяк Поволжья’ | – | – |
| 7. ‘Скиф’ | + | + | 20. ‘Память Кедрина’ | – | – |
| 8. ‘Красноглинское’ | – | + | 21. ‘Янтарь Самарский’ | + | – |
| 9. ‘Кутузовец’ | + | + | 22. ‘Оригинал’ | – | + |
| 10. ‘Самара’ | + | + | 23. ‘Рассвет Поволжья’ | – | + |
| 11. ‘Память Королева’ | – | – | 24. ‘Данко’ | – | + |
| 12. ‘Сокское розовое’ | – | + | 25. ‘Волжский шафран’ | – | + |
| 13. ‘Спартак’ | + | + | ‘Remo’* | + | + |

«+» – наличие фрагмента; «–» – отсутствие фрагмента; * – положительный контроль для QTL/
«+» – fragment presence; «–» – fragment absence; * – positive control for QTL

Локус FBF7 устойчивости яблони к бактериальному ожогу был картирован на хромосоме VII у сорта ‘Fiesta’. Данный QTL детерминирует 34,3-46,6% фенотипического варьирования признака устойчивости (Calenge et al., 2005). О наличии FBF7 QTL в генотипе яблони свидетельствует присутствие маркеров GE-8019 и AE10-375, которые фланкируют участок расположения локуса на хромосоме VII. Данные маркеры широко используется для анализа коллекций различных представителей рода *Malus*. Как показывают исследования коллекционных образцов яблони, QTL FBF7 распространен среди сортов (Khan et al., 2007; Nybom et al., 2012; Lyzhin, Savelyeva, 2021; Shamshin et al., 2025). В отдельных работах данный локус был выявлен и у дикорастущих видов яблони (Lyzhin, Saveleva, 2023).

Среди проанализированных нами образцов отмечены генотипы, у которых идентифицированы как один, так и оба маркера. Хотя бы один из двух изучаемых маркеров присутствует у 20 сортов. При этом маркер AE10-375 выявлен у 10 сортов яблони, а маркер GE-8019 – у 18. Оба маркера встречаются у 8 из 25 сортов. Считается, что генотипы яблони, которые несут оба маркера, можно рекомендовать в качестве потенциальных источников устойчивости к бактериальному ожогу (Calenge et al., 2005). Присутствие в генотипе яблони только одного маркера GE-8019 или AE10-375 не может указывать на наличие признака устойчивости к бактериальному ожогу у растения (Khan et al. 2007; Peil et al., 2014).

Для анализа встречаемости QTL FBF7 у изучаемых сортов была проведена оценка их родословных (Приложение 2/ Supplement 2). При создании сортов осеннего срока созревания плодов в качестве родительских форм использованы 30,8% генотипов, полученных до начала XX века и 69,2% – в период до 30-х годов XX века. Сорта зимнего срока созревания получены с участием исходных родительских форм, среди которых 13,9% были созданы до начала XX века, 69,4% в первой половине XX века, и только 16,7% в 50-70х годах XX века (Dulov, Shamshin, 2025). Анализ родословных показал, что маркер GE-8019 чаще всего встречается у сортов, полученных с использованием комбинации скрещивания ‘Скрыжапель’ × ‘Ренет Симиренко’. Из 13 сортов, в происхождении которых отмечена данная комбинация, у 10 выявлен маркер. Исключение составляют сорта ‘Рассвет Поволжья’,

‘Подарок министру’ и ‘Память Кедрина’, которые его не имеют. В то же время из восьми сортов, у которых идентифицировано два маркера локуса устойчивости к бактериальному ожогу, три имеют в своей родословной данную комбинацию. При этом сорт ‘Кутузовец’ является первым поколением от скрещивания этих сортов. В остальных образцах с двумя маркерами также прослеживается зависимость наличия маркеров от происхождения сорта. Например, у сорта ‘Спартак’ имеются оба маркера в генотипе, так же как и у всех производных от него – это сорта ‘Самарчанин’, ‘Скиф’, ‘Самара’.

Анализ литературы показывает, что в коллекционных образцах яблони чаще выявляется маркер AE10-375, чем GE-8019 (Tóth et al., 2013; Omasheva et al., 2016). Такая же закономерность отмечена и для дикорастущих видов яблони. Маркер GE-8019 идентифицирован в среднем у 50%, а маркер AE10-375 – у 76% образцов диких видов яблони (Lyzhin, Saveleva, 2023). В изученной нами коллекции у большинства генотипов выявлен маркер GE-8019.

Таким образом, в генотипе у 80% сортов яблони селекции НИИ «Жигулёвские сады» присутствует хотя бы один маркер локуса FBF7, связанного с устойчивостью к бактериальному ожогу. Маркер AE10-375 идентифицирован у 10 сортов, маркер GE-8019 – у 18 из 25 проанализированных сортов яблони. Наличие двух маркеров в одном генотипе отмечено у восьми сортов из десяти: ‘Спартанец’, ‘Самарский сувенир’, ‘Самарчанин’, ‘Скиф’, ‘Кутузовец’, ‘Самара’, ‘Спартак’, ‘Князь Засекин’, что делает их потенциальными источниками устойчивости к этому инфекционному заболеванию.

## References/Литература


Amirchakhmaghi N., Yousefzadeh H., Hosseinpour B., Espahbodi K., Aldaghi M., Cornille A. First insight into genetic diversity and population structure of the Caucasian wild apple (*Malus orientalis* Uglitzk.) in the Hyrcanian forest (Iran) and its resistance to apple scab and powdery mildew. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2018;65(4):1255-1268. DOI: 10.1007/s10722-018-0611-z

Burnashev M.R., Yakovleva V.A., Nesterenkova A.E. Analysis of phytosanitary quarantine state of the territory of the Russian Federation in 2021-2023. *Plant protection and quarantine*. 2025;(3):26-30. [in Russian] (Бурнашев М.Р., Яковлева В.А., Нестеренкова А.Э. Анализ карантинного фитосанитарного состояния территории Российской Федерации за 2021-2023 гг. *Защита и карантин растений.* 2025;(3):26-30). DOI: 10.47528/1026-8634_2025_3_26

Calenge F., Drouet D., Denancé C., Van de Weg W.E., Brisset M.N., Paulin J.P., Durel C.E. Identification of a major QTL together with several minor additive or epistatic QTLs for resistance to fire blight in apple in two related progenies. *Theoretical and Applied Genetics* 2005;111(1):128-135. DOI: 10.1007/s00122-005-2002-z

Dayton D.F. Genetic immunity to apple mildew incited by *Podosphaera leucotricha*. *HortScience*. 1977;12(3):225-226. DOI: 10.21273/HORTSCI.12.3.225

Doyle J.J., Doyle J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 1990;12(1):13-15.

Drenova N.V. fire blight in the russian federation and current approaches to its diagnostics. *Pomiculture and Small Fruits Culture in Russia*. 2019;58:131-137. [in Russian] (Дренова Н.В. Ожог плодовых культур в Российской Федерации и современные подходы к его диагностике. *Плодоводство и ягодоводство России*. 2019;58:131-137). DOI: 10.31676/2073-4948-2019-58-131-137

Drenova N.V., Shamshin I.N., Dubrovsky M.L., Maslova M.V., Ignatov A.N., Jalilov F.S. Resistance of apple clonal rootstocks to the fruit bacterial blight pathogen *Erwinia amylovora*. *Pomiculture and Small Fruits Culture in Russia*. 2024;76:99-112. [in Russian] (Дренова Н.В., Шамшин И.Н., Дубровский М.Л., Маслова М.В., Игнатов А.Н., Джалилов Ф.С. Устойчивость клоновых подвоев яблони к возбудителю бактериального ожога плодовых культур *Erwinia amylovora*. *Плодоводство и ягодоводство России*. 2024;76:99-112). DOI: 10.31676/2073-4948-2024-76-99-112

Dulov M.I., Shamshin I.N. Molecular genetic analysis of apple varieties breeded by the institute "Zhigulevskie gardens" by the *md-acs1* and *md-aco1* genes of ethylene biosynthesis in fruits during ripening and their storage. *Bulletin Samara State Agricultural Academy*. 2025;10(2):11-18. [in Russian] (Дулов М.И., Шамшин И.Н. Молекулярно-генетический анализ сортов яблони селекции института «Жигулевские сады» по генам *Md-ACS1* и *Md-ACO1* биосинтеза этилена в плодах при созревании и их хранении. *Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии*. 2025;10(2):11-18). DOI: 10.55170/1997-3225-2025-10-2-11-18

Durel C.-E., Denance C., Brisset M.N. Two distinct major QTL for resistance to fire blight co-localize on linkage group 12 in apple genotypes ‘Evereste’ and *Malus floribunda* clone 821. *Genome*. 2009;52(2):139-147. DOI: 10.1139/G08-111

Evans K., James C. Identification of SCAR markers linked to *Pl-w* mildew resistance in apple. *Theoretical and Applied Genetics*. 2003;106(7):1178-1183. DOI: 10.1007/s00122-002-1147-2

Emeriewen O.F., Peil A., Richter K., Zini E., Hanke M.-V., Malnoy M. Fire blight resistance of *Malus* × *arnoldiana* is controlled by a quantitative trait locus located at the distal end of linkage group 12. *European Journal of Plant Pathology*. 2017;148:1011-1018. DOI: 10.1007/s10658-017-1152-6

Emeriewen O., Richter K., Kilian A., Zini E., Hanke M.-V., Malnoy M., Peil A. Identification of a major quantitative trait locus for resistance to fire blight in the wild apple species *Malus fusca*. *Molecular Breeding*. 2014;34:407-419.

Emeriewen O.F., Wöhner T., Flachowsky H., Peil A. *Malus* hosts-*Erwinia amylovora* interactions: strain pathogenicity and resistance mechanisms. *Frontiers in Plant Science*. 2019;10:551. DOI: 10.3389/fpls.2019.00551

Gallott J.C., Lamb R.C., Aldwinckle H.S. Resistance to powdery mildew from some small-fruited *Malus* cultivars. *Horticultural Science.* 1985;20(6):1085-1087. DOI: 10.21273/HORTSCI.20.6.1085

Galymbek K., Kuan A., Kaldybayeva D., Abdikarimova R., Bakirov S., Aitymbet Z., Madenova A. Distribution of powdery mildew resistance genes in the Kazakhstan apple cultivar collection. *Brazilian Journal of Biology.* 2025;85:e287949. DOI: 10.1590/1519-6984.287949

Höfer M., Flachowsky H., Schröpfer S., Peil A. Evaluation of scab and mildew resistance in the gene bank collection of apples in Dresden-Pillnitz. *Plants.* 2021;10(6):1227. DOI: 10.3390/plants10061227

James C.M., Clarke J.B., Evans K.M. Identification of molecular markers linked to the mildew resistance gene *Pl-d* in apple. *Theoretical and Applied Genetics*. 2004;110:175-181. DOI: 10.1007/s00122-004-1836-0

Kashirskaya N.Ya., Kochkina A.M. Directions of ecologization of apple plant protection from pests and diseases. *Breeding and Variety Cultivation of Fruit and Berry Crops.* 2020;7(1-2):82-84. [in Russian] (Каширская Н.Я., Кочкина А.М. Направления экологизации защиты растений яблони от вредителей и болезней. *Селекция и сорторазведение садовых культур*. 2020;7(1-2):82-84). DOI: 10.24411/2500-0454-2020-11221

Khan M.A., Durel C.-E., Duffy B., Drouet D., Kellerhals M., Gessler C., Patocchi A. Development of molecular markers linked to the ‘Fiesta’ linkage group 7 major QTL for fire blight resistance and their application for marker-assisted selection. *Genome*. 2007;50(6):568-577. DOI: 10.1139/g07-033

Khankishieva E.M. Screening for resistance of local Azerbaijan apple

varieties to *Venturia inaequalis* (Cooke.) Wint. and *Podosphaera leucotricha* Salm. pathogen using molecular markers. *Fruit Growing*. 2020;32(1):44-52. [in Russian] (Ханкишиева Э.М. Скрининг устойчивости местных сортов яблони Азербайджана к патогенам *Venturia inaequalis* (Cooke.) Wint. и *Podosphaera leucotricha* Salm. с использованием молекулярных маркеров. *Плодоводство*. 2020;32(1):44-52).

Knight R.L., Alston F.H. Sources of field immunity to mildew (*Podosphaera leucotricha*) in apple. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*. 1968;10(2):294-298. DOI: 10.1139/g68-041

Kochetkov V.M., Slepkov S.A. Adaptive and ecological potential of apple varieties resistant and immune to major fungal diseases and their production performance (Adaptivnyi i ekologicheskiy potentsial ustoychivykh i immunnykh k osnovnym gribnym boleznyam sortov yabloni i ikh proizvodstvennyye pokazateli). In: *Problems of agroecology and adaptivity of cultivars in modern horticulture in Russia: Proceedings of the international scientific and practical conference* (*Problemy agroekologii i adaptivnost' sortov v sovremennom sadovodstve Rossii: materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii); 2008 July 1–4; Orel, Russia*. Orel: VNIISPK; 2008. p.132-135. [in Russian] (Кочетков В.М., Слепков С.А. Адаптивный и экологический потенциал устойчивых и иммунных к основным грибным болезням сортов яблони и их производственные показатели. В кн.: *Проблемы агроэкологии и адаптивность сортов в современном садоводстве России: материалы международной научно-практической конференции; 01–04 июля 2008 г.; Орел, Россия*. Орел: ВНИИСПК; 2008. С.132-135). URL: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_28836609_21786630.pdf [дата обращения: 14.05.2026].

Krasova N.G., Ozherelieva Z.E., Golyshkina L.V., Makarkina M.A., Galasheva A.M. Winter hardiness of apple tree varieties (Zimostoykost' sortov yabloni). Orel: VNIISPK; 2014 [in Russian] (Красова Н.Г., Ожерельева З.Е., Голышкина Л.В., Макаркина М.А., Галашева А.М. Зимостойкость сортов яблони. Орел: ВНИИСПК; 2014).

Lyzhin A.S., Saveleva N.N. Marker-mediated screening of powdery mildew resistant (*Pl-1* gene) apple genotypes. *Vestnik of the Mari State University. Chapter: Agriculture. Economics.* 2020;6(2):180-186. [in Russian] (Лыжин А.С., Савельева Н.Н. Маркер-опосредованный скрининг устойчивых к мучнистой росе (ген *Pl-1*) генотипов яблони. *Вестник Марийского государственного университета. Серия: Сельскохозяйственные науки. Экономические науки*. 2020;6(2):180-186). DOI: 10.30914/2411-9687-2020-6-2-180-186

Lyzhin A.S., Savel'eva N.N. Polymorphism of wild species of p. *Malus* Mill. according to powdery mildew resistance genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Agrarian Series*. 2021;59(1):62-70. [in Russian] (Лыжин А.С., Савельева Н.Н. Полиморфизм дикорастущих видов р. *Malus* Mill. по генам устойчивости к мучнистой росе. *Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя аграрных навук*. 2021;59(1):62-70). DOI: 10.29235/1817-7204-2021-59-1-62-70

Lyzhin A.S., Savelyeva N.N. Molecular genetic analysis of apple varieties according to QTL FBF7 resistance to fire blight. *Nauchnyye Trudy Severo-Kavkazskogo Zonal'nogo Nauchno-Issledovatel'skogo Instituta Sadovodstva i Vinogradarstva = Proceedings of the North Caucasian Federal Scientific Center for Horticulture, Viticulture, Winemaking*. 2021;33:97-100. [in Russian] (Лыжин А.С., Савельева Н.Н. Молекулярно-генетический анализ сортов яблони по QTL FBF7 устойчивости к бактериальному ожогу. *Научные труды Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия*. 2021;33:97-100). DOI: 10.30679/2587-9847-2021-33-97-100

Lyzhin A.S., Saveleva N.N. Occurrence of the *FBF7* fire blight resistance locus in accessions of apple wild species (*Malus* Mill.). *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding.* 2023;184(4):133-142. [in Russian] (Лыжин А.С., Савельева Н.Н. Встречаемость локуса устойчивости к бактериальному ожогу *FBF7* у образцов диких видов яблони (*Malus* Mill.) *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2023;184(4):133-142). DOI: 10.30901/2227-8834-2023-4-133-142

Markussen T., Krüger J., Schmidt H., Dunemann F. Identification of PCR-based markers linked to the powdery-mildew-resistance gene *Pl-1* from *Malus robusta* in cultivated apple. *Plant Breeding*. 1995;114(6):530-534. DOI: 10.1111/j.1439-0523.1995.tb00850.x

Nybom H., Mikiciński A., Garkava-Gustavsson L., Sehic J., Lewandowski M., Sobiczewski P. Assessment of fire blight tolerance in apple based on plant inoculations with *Erwinia amylovora* and DNA markers. *Trees*. 2012;26(1):199-213. DOI: 10.1007/s00468-011-0649-4

Omasheva M.Y., Pozharskiy A.S., Maulenbay A.D., Ryabushkina N.A., Galiakparov N.N. SSR genotyping of Kazakhstani apple varieties: identification of alleles associated with resistance to highly destructive pathogens. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*. 2016;2:46-58. DOI: 10.11134/btp.2.2016.4

Patzak J., Paprštein F., Henychová A. Identification of apple scab and powdery mildew resistance genes in Czech apple (*Malus*×*domestica*) genetic resources by PCR molecular markers. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. 2011;47(4):156-165. DOI: 10.17221/140/2011-CJGPB

Peil A., Emeriewen O.F., Khan A., Kostick S., Malnoy M. Status of fire blight resistance breeding in *Malus. Journal of Plant Pathology*. 2021;103:3-12.

Peil A., Hanke M.-V., Flachowsky H., Richter K., Garcia T., Trognitz B. Developing molecular markers for marker assisted selection of fire blight resistant apple seedlings. *Acta Horticulturae*. 2007;763:117-122. DOI: 10.17660/actahortic.2007.763.15

Peil A., Wöhner T., Hanke M.-V., Flachowsky H., Richter K., Wensing A., Emeriewen O., Malnoy M., LeRoux P.-M., Patocchi A., Kilian A. Comparative mapping of fire blight resistance in *Malus*. *Acta Horticulturae.* 2014;1956:47-51. DOI: 10.17660/ActaHortic.2014.1056.4

Podgornaya M.E., Fedorenko Yu.M. Control of pesticides residues in orchards. *Plant protection and quarantine = Zashchita i karantin rasteniy.* 2014;(3):38-40. [in Russian] (Подгорная М.Е., Федоренко Ю.М. Контроль остаточных количеств пестицидов в садах. *Защита и карантин растений*. 2014;(3):38-40).

RosStat. Bulletin "Area, Gross Harvest, and Productivity of Perennial Plantings in the Russian Federation in 2024" (Byulleten' "Ploshchadi, valovoy sbor i urozhaynost' mnogoletnikh nasazhdeniy v Rossiyskoy Federatsii v 2024 godu"). Moscow; 2025. [in Russian] (Росстат. Бюллетень «Площади, валовой сбор и урожайность многолетних *насаждений* в Российской Федерации в 2024 году. Москва; 2025). URL: https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/Plod_2024.xlsx [дата обращения: 15.05.2026].

Sadanov A.K., Suleimenova Z.B., Ismailova E.T., Shemshura O.N., Baimakhanova B.B., Baimakhanova G.B., Bisko N.A., Molzhigitova A.E., Yelubayeva A.E., Tleubekova D.A. Fire blight of fruit crops. *Microbiology and Virology*. 2023;1(40):35-46. DOI: 10.53729/MV-AS.2023.01.02

Shamshin I.N., Dubrovsky M.L., Trifonova A.A., Boris K.V., Kudryavtsev A.M. Powdery mildew resistance of apple clonal rootstocks from the collection of the Michurinsk State Agrarian University. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;27(6):572-581. DOI: 10.18699/VJGB-23-69

Shamshin I.N., Telezhinskiy D.D., Shlyavas A.V. Molecular marker analysis of genes of resistance to scab and fire blight in the apple cultivars bred at the Sverdlovsk Horticultural Breeding Station. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2025;8(2):38-47. [in Russian] (Шамшин И.Н., Тележинский Д.Д., Шлявас А.В. Анализ генов устойчивости к парше и бактериальному ожогу у сортов яблони селекции Свердловской селекционной станции садоводства с использованием молекулярных маркеров. *Биотехнология и селекция растений*. 2025;8(2):38-47). DOI: 10.30901/2658-6266-2025-2-o2

Simon C.J., Weeden N.F. Elucidation of crab apple lineage by direct examination of rDNA sequences. *Malus*. 1991;5:4-6.

Suprun I.I., Tokmakov S.V., Risovannaya V.I., Volodin V.A., Shcherbatko V.D. Identification of apple tree *Pl1* and *Pl2*

genes for resistance to mildew and *Vf* and *Vm* genes for resistance to scab in apple tree varieties from the collection of genetic resources of Crimea. *Scientific papers of the North Caucasian Zonal Scientific Research Institute of Horticulture and Viticulture = Nauchnyye Trudy Severo-Kavkazskogo Zonal'nogo Nauchno-Issledovatel'skogo Instituta Sadovodstva i Vinogradarstva*. 2015;7:15-19. [in Russian] (Супрун И.И., Токмаков С.В., Рисованная В.И., Володин В.А., Щербатко В.Д. Идентификация генов устойчивости яблони к мучнистой росе *Pl-1* и *Pl-2* и парше *Vf* и *Vm* у сортов яблони из коллекций генетических ресурсов Крымского полуострова. *Научные труды Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского института садоводства и виноградарства.* 2015;7:15-19).

Tóth M., Ficzek G, Király I., Honty K., Hevesi M. Evaluation of old Carpathian apple cultivars as genetic resources of resistance to fire blight (*Erwinia amylovora*). *Trees*. 2013;27:597-605. DOI: 10.1007/s00468-012-0814-4

Urbanovich O.Y., Kozlovskaya Z.A., Kartel N.A. Spread of mildew resistance genes in the collection of apple cultivars and species grown in Belarus. *Molecular & Applied Genetics: Proceedings.* 2010;11:20-25. [in Russian] (Урбанович О.Ю., Козловская З.А., Картель Н.А. Распространение генов устойчивости к мучнистой росе в коллекции сортов и видов яблони, выращиваемых в Беларуси. *Молекулярная и прикладная генетика: сборник научных трудов*. 2010;11:20-25).

Visser T., Verhaegh J.J. Review of tree fruit breeding carried out at the Institute for Horticultural Plant Breeding at Wageningen from 1951-1976. In: *Proceedings of the Eucarpia meeting of tree fruit breeding.* Wageningen; 1976. p.113-132.

## *Информация об авторах*

**Иван Николаевич Шамшин,** кандидат биологических наук, заведующий, лаборатория молекулярно-генетического анализа плодовых растений, Мичуринский государственный аграрный университет, 393760 Россия, Тамбовская область, Мичуринск, ул. Интернациональная, 101, ivan_shamshin@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-4464-1876

**Михаил Иванович Дулов,** доктор сельскохозяйственных наук, профессор, ведущий научный сотрудник, Научно-исследовательский институт садоводства и лекарственных растений «Жигулевские сады», 443072 Россия, Самара, 18 км Московского шоссе, Опытная станция по садоводству, dulov-tehfak@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-7118-9520

## *Information about the authors*

**Ivan N. Shamshin,** Cand. Sci. (Biology), Head, Laboratory of Molecular Genetic Analysis of Fruit Plants, Michurinsk State Agrarian University, 101, Internatsional'naya Street, Michurinsk, Tambov Region, 393760 Russia, ivan_shamshin@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-4464-1876

**Mikhail I. Dulov,** Dr. Sci. (Agriculture), Professor, Leading Researcher, Scientific Research Institute of Horticulture and Medicinal Plants "Zhiguli Gardens", Experimental Gardening Station, 18 km of Moskovskoye Highway, Experimental Gardening Station, Samara, 443072 Russia, dulov-tehfak@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-7118-9520

***Вклад авторов:*** все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.
***Contribution of the authors:*** the authors contributed equally to this article.
***Конфликт интересов:*** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
***Conflict of interests:*** the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 25.12.2025; одобрена после рецензирования 21.05.2026; принята к публикации 28.06.2026.
The article was submitted on 25.12.2025; approved after reviewing on 21.05.2026; accepted for publication on 28.06.2026.

**Биотехнология и селекция растений / Plant Biotechnology and Breeding**

**Научный рецензируемый журнал / Scientific Peer Reviewed Journal**

ISSN 2658-6266 (Print); ISSN 2658-6258 (Online)
4 номера в год (ежеквартально) / Publication frequency: Quarterly
https://biosel.elpub.ru; e-mail: pbi@vir.nw.ru

Языки: русский, английский / Languages: Russian, English
Индексируется в РИНЦ (НЭБ), Scopus, 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, Scopus, 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: *Е.И. Михайлова*
Переводчик: *С.В. Шувалов*
Корректоры: *С.В. Шувалов, И.В. Котелкина*
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 26.09.2026.
Дата выхода в свет 30.09.2026.
Формат $70\times100^{1}/_{8}$
Бумага офсетная. Печать офсетная.
Печ. л. 13,5. Тираж 30. Заказ № 390/4. Бесплатно.

Издатель: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр
Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» (ВИР),
редакционно-издательский сектор ВИР

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

Отпечатано: ИП «Владимиров Вадим Исаакович»
Адрес: 192284, Санкт-Петербург,
Малая Балканская ул., д.4, к. 1 литер А кв. 55

БИОТЕХНОЛОГИЯ
И СЕЛЕКЦИЯ
РАСТЕНИЙ

9(3), 2026