Линии генетической коллекции подсолнечника ВИР, устойчивые к ложной мучнистой росе

DOI: 10.30901/2227-8834-2021-3-101-110
УДК 635.659:633.52
Поступление/Received: 18.03.2021
Принято/Accepted: 02.09.2021

CC BY

В. А. ГАВРИЛОВА*, Т. Г. СТУПНИКОВА, Л. Г. МАКАРОВА, Н. В. АЛПАТЬЕВА, Ю. И. КАРАБИЦИНА, Е. Б. КУЗНЕЦОВА, И. Н. АНИСИМОВА

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44;
** v.gavrilova@vir.nw.ru*

Lines resistant to downy mildew in the sunflower genetic collection at VIR

V. A. GAVRILOVA, T. G. STUPNIKOVA, L. G. MAKAROVA, N. V. ALPATIEVA, YU. I. KARABITSINA, E. B. KUZNETSOVA, I. N. ANISIMOVA

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia
** v.gavrilova@vir.nw.ru*

Актуальность. Ложная мучнистая роса (ЛМР), вызываемая грибом *Plasmopara halstedii* (Farl) Berl. & De Toni, – одно из самых вредоносных заболеваний подсолнечника (*Helianthus annuus* L.). Ежегодно из-за поражения патогеном теряется от 30 до 70% урожая семян. Создание линий, устойчивых к новым расам возбудителя, необходимо для селекции промышленных гибридов подсолнечника.

Материал и методы. В 2016–2018 гг. оценивали по устойчивости к ЛМР в полевых условиях Кубанской опытной станции – филиала ВИР 323 линии и 10 сортов коллекции подсолнечника. Контролем служила линия ВИР 845, поражаемая ЛМР во все годы наблюдений. Для идентификации генов устойчивости провели молекулярный анализ с использованием диагностических маркеров генов Pl_{arg}, Pl_6 и Pl_8, детерминирующих устойчивость к большинству известных рас *P. halstedii*.

Результаты. Сорта – родоначальники линий ВИР оказались неустойчивы в той или иной степени. Выявлены 39 линий, устойчивых в 2016 и 2018 г., из них 36 были поражены в 2017 г. Предполагается, что в 2017 г. имела распространение другая раса *P. halstedii* по сравнению с расами, преобладавшими в 2016 и 2018 г., в связи с чем гены, определявшие устойчивость в 2016 и 2018 г., оказались неэффективными. Линии ТА 716-18, ВИР 768, ВИР 800, полученные из межвидовых гибридов, демонстрировали отсутствие поражения в течение трех лет испытания. У большинства линий, показавших устойчивость в 2016 и 2018 г., детектированы маркеры генов Pl_{arg}, Pl_6 и Pl_8. У линий ВИР 768 и ВИР 800 маркеры отсутствовали, у ТА 716-18 обнаружены маркеры генов Pl_{arg} и Pl_8.

Заключение. В результате многолетнего исследования создана признаковая коллекция подсолнечника, включающая генотипированные линии с различными генами устойчивости к ЛМР. Линии ТА 716-18, ВИР 768 и ВИР 800 высокоустойчивы к патогену и, по-видимому, несут новые гены/аллели устойчивости, интрогрессированные от дикого вида.

Ключевые слова: *Helianthus annuus*, генетические ресурсы, *Plasmopara halstedii*, расы, гены устойчивости, молекулярные маркеры.

Background. Downy mildew (DM) caused by the fungus *Plasmopara halstedii* (Farl) Berl. & De Toni) is one of the most harmful diseases of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Due to the pathogen's attacks, annual seed harvest losses range between 30% and 70%. Lines resistant to new races of the pathogen should be obtained for the development of commercial sunflower hybrids.

Materials and methods. Downy mildew resistance of 323 lines and 10 cultivars from the sunflower collection was assessed in the field at the Kuban Experiment Station of VIR in 2017–2018. Line VIR 845, susceptible during all years of observations, was used as a control. Resistance genes were identified by means of the molecular analysis using diagnostic markers of the Pl_{arg}, Pl_6 and Pl_8 genes that confer resistance to many known *P. halstedii* races.

Results. The founder varieties of VIR's lines were susceptible to a varying extent. Thirty-nine lines were resistant in 2016 and 2018; among those, 36 lines were susceptible in 2017. Presumably, a more virulent *P. halstedii* race became widespread in 2017, compared to the races that prevailed in 2016 and 2018, so the genes that determined resistance in 2016 and 2018 turned out to be ineffective. Lines TA 716-18, VIR 768, and VIR 800, having originated from interspecific hybrids, exhibited absence of pathogenic damage during 3 years of the trials. Molecular markers of the Pl_{arg}, Pl_6 and Pl_8 genes were detected in most lines that demonstrated resistance in 2016 and 2018. There were no markers in lines VIR 768 and VIR 800, whereas in TA 716-18 the markers of Pl_{arg} and Pl_8 were present.

Conclusion. As a result of the long-term studies, a trait-specific genetic collection was established for sunflower. It comprises genotyped lines with various effective DM resistance genes. Lines TA 716-18, VIR 768 and VIR 800 appeared highly resistant to the pathogen and probably possess new resistance genes/alleles introgressed from wild species.

Key words: *Helianthus annuus*, genetic resources, *Plasmopara halstedii*, races, resistance genes, molecular markers.

Введение

Потенциал сортов и гибридов подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) не реализуется из-за поражения болезнями, поэтому необходимы исследования, направленные на поиск и создание устойчивых форм. Ежегодно из-за поражения патогенами теряется от 30 до 70% урожая семян подсолнечника. Описано свыше 40 различных заболеваний, из которых 28 зарегистрировано в России. Болезни подсолнечника приводят не только к уменьшению урожайности, но и резко ухудшают качество продукции: снижаются масличность, всхожесть семян и их качество, увеличивается лузжистость, возрастает кислотность масла и, как следствие, ограничивается его использование на пищевые цели. Ложная мучнистая роса (возбудитель *Plasmopara halstedii* (Farl) Berl. & De Toni) представляет большую опасность для всей зоны возделывания подсолнечника (Novotelnova, 1966). Специальными опытами на основании трехлетних наблюдений установлено, что при 95% поражения растений в фазе двух-трех настоящих листьев недобор урожая семян составляет 98,2% от урожая семян со здоровых посевов; при 65% поражения растений в той же фазе развития – 68,2%; при 35% – соответственно 36,1% и при степени поражения около 5% – 5,1% (Korshunova, 1960). Заражение растений подсолнечника возбудителем ложной мучнистой росы происходит на ранних стадиях онтогенеза в результате почвенной инфекции или при наличии инфекции в семенах. В период вегетации может происходить вторичное, дополнительное заражение взрослых растений по причине спороношения гриба на растениях, зараженных ранее (Gascuel et al., 2015).

Подсолнечник, пораженный возбудителем ложной мучнистой росы, имеет дегенеративный вид. Все его органы патологически изменены под воздействием патогена. Симптомы поражения хорошо заметны и характерны: карликовый рост, утонченные или утолщенные стебли, сближенные междоузлия, укороченные черешки листьев, густой белый налет на листьях, мелкие щуплые семянки, в ряде случаев – преждевременное усыхание растений.

Н. С. Новотельновой (Novotelnova, 1966) описаны четыре формы болезни, зависящие от степени и сроков поражения растений. Первая форма – сублетальная, характеризующаяся резким отставанием роста и развития растений. Нижняя сторона листовой пластинки покрыта плотным белым налетом, который образуется в результате спороношения гриба. Растения редко достигают фазы цветения и, не образуя семян, погибают. Вторая форма также проявляется в отставании растений в росте, утолщении стебля и укорочении междоузлий. Листья хлоротичные, особенно верхние, покрыты белым налетом с нижней стороны. Растения способны вегетировать длительное время и даже плодоносить. Третья форма отличается от первых двух отсутствием угнетения роста растения. Инфекция проявляется только на листьях. Для третьей формы характерно более позднее проявление. При скрытом течении заболевания, характерном для четвертой формы, наблюдается локализация возбудителя на корнях и корневой шейке растения. Там же может наступать спороношение (Novotelnova, 1966). Формы проявления ложной мучнистой росы зависят от стадии развития растения, на которой происходит развитие болезни. Нет сведений о том, что поражение разными расами *P. halstedii* связано с разными формами проявления.

Заболевание впервые появилось в США в 1920-х гг., в начале 1940-х гг. проникло в Европу и в период между 1940 и 1970 г. получило эпидемическое распространение в странах Восточной Европы. Благодаря высокой генетической пластичности возбудитель заболевания быстро эволюционирует, что значительно осложняет его эффективный контроль путем создания генетически защищенных сортов и гибридов (Spring, 2019). Всего в мире известно 36 патотипов *P. halstedii* (Pecrix et al., 2019); обнаружено более 45 физиологических рас патогена и наблюдается постоянное возникновение новых, с более широким спектром вирулентности (Ramazanova, Antonova, 2019). В Краснодарском крае до недавнего времени были распространены расы 330, 710, 730 (Antonova et al., 2011). В последние годы получили распространение новые расы: 334, 713 и 733 (Ramazanova, Antonova, 2019). Исследования по идентификации расового состава популяций *P. halstedii* и поиску устойчивых генотипов проводятся в лабораторных условиях Всероссийского института масличных культур имени В. С. Пустовойта (ВНИИМК, Краснодар). Для идентификации рас *P. halstedii* используют международный тест-набор линий-дифференциаторов подсолнечника (Ramazanova, Antonova, 2019).

Необходимо создание сортов и гибридов, несущих главные гены устойчивости. К настоящему времени известно 36 генов, детерминирующих устойчивость подсолнечника к возбудителю ложной мучнистой росы. Гены групп сцепления 1, 8 и 13 имеют кластерную организацию, единичные гены картированы на хромосомах 2 и 4 (Qi et al., 2015, 2016; Pecrix et al., 2018; Ma et al., 2019). В группах сцепления 1, 9 и 17 идентифицированы также локусы количественных признаков (Quantitative Trait Loci, QTL), обуславливающие частичную устойчивость (Al-Chaarani et al., 2002), однако использование в селекции главных генов (*Pl*), которые обеспечивают устойчивость к большому числу рас, считается более перспективным (Pecrix et al., 2018). Среди таких генов наиболее эффективны Pl_{arg}, Pl_6, Pl_5, Pl_8.

Ген Pl_{arg}, интродуцированный из генома однолетнего дикого вида *H. argophyllus* Torr. & A. Gray, картирован в группе сцепления 1 (LG1) (Wieckhorst et al., 2010). Он контролирует устойчивость к восьми распространенным в Европе расам патогена: 100, 304, 314, 334, 703, 704, 710, 714 (Vear et al., 2010). Ген обеспечивает реакцию устойчивости I типа (Mouzeyar et al., 1994), при которой распространение патогена ограничивается основанием семядоли.

В группе сцепления 1 находится также ген устойчивости Pl_{14}. Опосредованная этим геном устойчивость к *P. halstedii* классифицирована как тип реакции II: рост мицелия происходит в гипокотиле и семядолях, но не достигает настоящих листьев. Установлено, что локус Pl_{arg} имеет кластерную организацию, продукт гена-кандидата относится к классу NBS-LRR-белков, содержащих на N-конце Toll-интерлейкин-рецепторный домен (TIR-NBS-LRR) (Radwan et al., 2011).

Сложную организацию имеет и локус Pl_6, гены которого также были интрогрессированы от однолетних дикорастущих видов рода *Helianthus* L. Он картирован в группе сцепления LG8 и содержит 11 тесно сцепленных генов, относящихся к классу TIR-NBS-LRR, которые обуславливают устойчивость к трем расам: 100, 703, 710 (Vear et al., 2010). В более поздней публикации С. А. Рамазановой и Т. С. Антоновой сообщается о том, что локус Pl_6 определяет устойчивость к расам 100, 300, 700, 703, 710, 330, 770 и 730 (Ramazanova, Antonova, 2019).

Кластер генов Pl_5/Pl_8 находится в группе сцепления 13, в одном плече с локусом *Rf1*, детерминирующим признак восстановления фертильности пыльцы. Локус Pl_5, переданный из генома дикого гексаплоидного вида *H. tuberosus* L., определяет устойчивость к расам 100, 304, 314, 703, 710, 704, 714. Локус Pl_8, интрогрессированный от *H. argophyllus*, детерминирует устойчивость к 16 расам патогена (Radwan et al., 2003). Результаты анализа *in silico* белков, кодируемых аналогами генов устойчивости (RGA – Resistance Gene Analogues) в локусе Pl_5/Pl_8, показали их принадлежность к классу CC-NBS-LRR, характеризующемуся наличием на N-конце сверхспирализованного домена (Radwan et al., 2004).

Идентификация носителей генов Pl_{arg}, Pl_6, Pl_8 – важный этап пребридинговой селекции подсолнечника. Для отбора генотипов, несущих гены устойчивости, перспективно использование опубликованных в литературных источниках молекулярных маркеров (Dimitrijevic, Horn, 2018). Линии подсолнечника коллекции ВИР являются ценным исходным материалом для создания гетерозисных гибридов. Их генотипы по локусам, контролирующим устойчивость к возбудителю ложной мучнистой росы, неизвестны. *Цель настоящего исследования* – создание признаковой коллекции линий подсолнечника по устойчивости к *P. halstedii* и идентификация их генотипов по локусам генов, детерминирующим устойчивость к широкому набору рас патогена.

Материал и методы

Полевые опыты и наблюдения проведены согласно Методическим указаниям ВИР (Anashchenko, 1978) в 2016–2018 гг. Посев проводился в 2016 и 2017 г. на двухрядковых, в 2018 г. – на трехрядковых делянках. Расстояние между рядками и между гнездами – 70 × 70 см, по два растения в гнезде. Несмотря на то что в рядке высевалось по 14 растений, к моменту учета наблюдалось разное количество растений из-за разной всхожести и других непредвиденных обстоятельств, поэтому учитывались общее число растений на делянке, число пораженных растений и процент пораженных растений. Устойчивыми считали те растения, у которых не наблюдали никаких видимых симптомов присутствия ЛМР. Учет проводили дважды: в конце мая – начале июня на стадии образования соцветия и в конце июля после цветения. В 2016–2018 гг. в полевых условиях оценили 333 линии и сорта, в том числе образцы, выделенные как устойчивые в полевых условиях в 2008–2010 гг. и показавшие устойчивость к расам 330, 710 и 730 в результате лабораторного скрининга, проведенного Т. С. Антоновой и коллегами во Всероссийском институте масличных культур (ВНИИМК) (Antonova et al., 2011). В изучении находились в основном линии ВИР, созданные сотрудниками на протяжении последних 30 лет, 10 сортов – родоначальников линий, а также линии селекции ВНИИМК, США и Канады.

Для молекулярного скрининга были отобраны 50 образцов, в числе которых устойчивые линии коллекции подсолнечника, а также образец дикого вида *H. argophyllus* – донора гена Pl_{arg}. Тотальную ДНК выделяли из зеленых листьев с помощью модифицированного протокола, основанного на использовании СТАБ-буфера (Li et al., 2007; Anisimova et al., 2018). При проведении молекулярного скрининга оценивали полиморфизм трех маркерных локусов: ORS716 – SSR-маркер для идентификации носителей гена Pl_{arg} (Wieckhorst et al., 2010; Imerovski et al., 2014); HAP3 – внутригенный STS-маркер, эффективный для идентификации носителей гена Pl_6 (Bouzidi et al., 2002; Ramazanova, Antonova 2019; Ramazanova et al., 2020); Ha-P1 – внутригенный STS-маркер локуса Pl_8 (Radwan et al., 2004).

Реакционная смесь (25 мкл) содержала 50 нг геномной ДНК, однократный реакционный буфер, 1,5 мМ $MgCl_2$, по 5 пМ каждого из праймеров, по 0,2 мМ каждого dNTP и 1-2 е.а. *Taq* ДНК-полимеразы. ПЦР проводили при следующих условиях: начальная денатурация при 95°С – 3 мин, затем 35 циклов: 95°С – 30 сек, 60°С – 30 сек и 72°С – 2 мин; финальная элонгация – 4 мин при 72°С. Продукты амплификации разделяли электрофорезом в агарозном геле концентрации 3% (маркер ORS716) или 1,5% (маркеры HaP3, Ha-P1) в 1 × TBE буфере. Продукты окрашивали бромистым этидием и визуализировали в ультрафиолетовом свете. Использовали реактивы от компаний «Хеликон», «Евроген», «Диалат», Fermentas.

Результаты и обсуждение

В полевых условиях Кубанской опытной станции – филиала ВИР ежегодно в течение последних 20 лет проводится оценка образцов коллекции подсолнечника по устойчивости к ложной мучнистой росе. Образцы, выделенные в качестве устойчивых или слабо поражаемых, в 2008–2010 гг. были переданы во ВНИИМК для оценки в лабораторных условиях на семядольных листьях с использованием Международного тест-набора линий-дифференциаторов. Проведено тестирование 480 образцов подсолнечника коллекции ВИР по устойчивости к трем расам (330, 710 и 730) ложной мучнистой росы. Выявлено 12 образцов, устойчивых ко всем трем расам: к-2644 (Испания), к-2793 (Краснодарский край), к-3362 (Австралия), к-3532 (США) а также линии ВИР: ВИР 247 (к-3314), ВИР 387 (к-3338), ВИР 435 (к-3467), ВИР 581 (к-3381), ВИР 702 (к-3497), ВИР 632 (к-3635), ВИР 635 (к-3622) и RHA 278 (и-625210, США) (Antonova et al., 2011). Однако наблюдения последних лет показали, что некоторые из отобранных линий в полевых условиях стали восприимчивы к инфекции.

В полевых условиях Кубанской опытной станции ВИР в разные годы (2016–2018 гг.) проведения следующего этапа исследований отмечена различная напряженность инфекционного фона. Неустойчивый контроль – линия ВИР 845 (к-3792) в годы изучения характеризовалась следующими показателями: 2016 г. – 93,3% пораженных растений, 2017 г. – 100%, 2018 г. – 33%. Сорта – родоначальники линий ВИР оказались неустойчивы в той или иной степени. Поражался и сорт ‘Прогресс’, ранее устойчивый. Очевидно, в 2017 г. инфекционная нагрузка оказалась самой высокой, что позволило дифференцировать образцы по устойчивости к патогену. Полностью результаты оценки всех изученных образцов (число учтенных растений, пораженных ЛМР и процент пораженных растений будут представлены в каталоге мировой коллекции ВИР.

В 2016 и 2018 г. из 323 образцов 39 линий не имели симптомов поражения ЛМР, из них 36 линий оказались пораженными в 2017 г. Только три линии не имели признаков заболевания в течение трех лет изучения: ТА 716-18 (к-2773), ВИР 768 (к-3568), ВИР 800 (к-3571). Эти линии созданы на основе межвидовых гибридов: ТА 716-18 получена из межвидового гибрида *H. tuberosus* × *H. annuus*, ВИР 768 – из межвидового гибрида *H. annuus* × *H. maximiliani*, ВИР 800 – из межвидового гибрида

H. annuus × *H. giganteus*. Остальные 36 линий различались по уровню устойчивости. Линии ВИР 381 (к-3336), ВИР 388 (к-3696), ВИР 452 (к-3435), ВИР 581 (к-3381) были устойчивы в 2016 г., но незначительно поражены (3–4%) в 2018 г. Для линии ВИР 434А отмечено 3,7% неустойчивых растений только в год с наибольшей инфекционной нагрузкой, а у ее фертильного аналога зафиксировано от 3,2 до 9,1% поражения во все годы наблюдений. Аналогичная ситуация для линии ВИР 117А, которая демонстрировала 46,4% пораженных растений в 2017 г. и устойчивость к ЛМР в 2016 и 2018 г., тогда как фертильный аналог ВИР 117Б был устойчив только в 2018 г.

К сожалению, в эти годы не были посеяны линии-дифференциаторы рас ложной мучнистой росы. Поскольку они позже вошли в состав коллекции, выявить расовый состав патогена в 2016–2018 гг. не представляется возможным.

Для определения генотипов 45 линий, отобранных по устойчивости к возбудителю ЛМР, провели скрининг с использованием молекулярных маркеров генов Pl_{arg}, Pl_6 и Pl_5/Pl_8, результаты которого представлены в таблице.

Таблица. Характеристика линий подсолнечника коллекции ВИР по устойчивости к ложной мучнистой росе и наличию молекулярных маркеров генов *Pl*

Table. Description of sunflower lines from VIR's collection according to their downy mildew resistance and presence of molecular markers of the *Pl* genes

Название образца / Accession name	№ по каталогу ВИР / VIR catalogue No.	Происхождение Origin	Число проанализированных растений, шт. / Number of analyzed plants	Процент растений, пораженных ЛМР в 2017 г., % / Percentage of DM-infected plants, %	Маркеры генов устойчивости / Markers of resistance genes		
					ORS716_303 (Pl_{arg})	HaP3_1800 (Pl_6)	Ha-P1_2000 (Pl_8)
ТА 716-18	2773	*,Украина	26	0	+	–	+
ВИР 768	3568	ВИР232 × *H. maximilianii*, РФ	12	0	–	–	–
ВИР 800	3570	ВИР114 × *H. giganteus*, РФ	12	0	–	–	–
ВИР 583	3383	RHA340, США	16	0	–	–	+
ВИР 581	3381	RHA278, США	17	0	–	+	–
ВИР 846	3683	к-3619, США	34	0	+	–	–
ВИР 849	3779	к-3583, Аргентина	40	0	+	+	–
ВИР 801	3571	Sunbred 265, Франция	13	0	+	–	–
ВИР 769	3556	ВИР151 × *H. trachelifolius*, РФ	31	3,0	–	+	–
ВИР 370	3329	ВИР113 × источник *Rf, Pl*, РФ	33	3,0	+	–	+
ВИР 434Б	3515	HA378, США	31	3,2	+	–	–
ВИР 434А	3514	HA378, США	27	3,7	+	–	–
ВИР 641	3419	отбор из ВИР160 (к-2227, США)	29	3,4	–	+	–
ВИР 381	3336	ВИР113 × источник *Rf, Pl*, РФ	32	6,3	+	–	+
ВИР 388	3696	SL 3372, Болгария	28	7,1	+	–	–
ВИР 349	3503	ВИР113 × источник *Rf, Pl*, РФ	35	8,0	–	+	–

Таблица. Продолжение
Table. Continued

Название образца / Accession name	№ по каталогу ВИР / VIR catalogue No.	Происхождение Origin	Число проанализированных растений, шт. / Number of analyzed plants	Процент растений, пораженных ЛМР в 2017 г., % / Percentage of DM-infected plants, %	Маркеры генов устойчивости / Markers of resistance genes		
					ORS716_303 (Pl_{arg})	HaP3_1800 (Pl_6)	Ha-P1_2000 (Pl_8)
ВИР 215Б	3766	ВИР111 × к-2266, РФ	37	8,1	–	–	–
ТА 6463	2701	*, Украина	20	10	–	–	–
ВИР 438	3671	OR-30, США	37	10,8	–	–	–
ВИР 757	3636	ВИР151 × *H. trachelifolius*, РФ	28	11,0	–	+	–
ВИР 649	3421	SW 526 × R 5E, Франция	41	14,6	–	+	–
ВИР 850	3780	к-3583, Аргентина,	35	17,0	–	–	–
ВИР 249	3469	П-200-92, *Rf, Pl* × к-2699, РФ	12	17,0	–	–	–
ВИР 378	3333	ВИР104, РФ	35	17,1	–	+	–
ВИР 449	3527	Rf-1201, Румыния,	23	17,4	–	–	–
ВИР 858	3755	к-3619, США	22	18,0	+	–	–
СМ32	3161	*, Канада	16	19,0	–	–	–
ВИР 452	3435	L-3446, Румыния	31	19,4	–	–	+
ВИР 263	3324	ВИР 113 × источник *Rf, Pl*, РФ	24	20,8	–	+	–
ВИР 765	3773	SAM 462, Финляндия	17	23,0	–	+	–
ВИР 637	3490	гибрид SW509 × W 637, Франция	21	24,0	–	+	–
ВИР 215А	3765	ВИР111 × к-2266, РФ	23	26,1	–	–	
ВИР 903	3785	к-2019, Хабаровский край, РФ	26	27,0	–	–	–
СМ13	2289	*, Канада	32	28,0	–	–	–
ВИР 859	3783	к-3619, США	40	30,0	–	–	–
ВИР 789	3702	*, РФ	11	36,0	–	+	–
ВИР 369	3328	ВИР113 × источник *Rf, Pl*, РФ	33	39,4	–	+	–
ВИР 794	3797	*, РФ	25	40,0	–	+	–

Таблица. Окончание
Table. The end

Название образца / Accession name	№ по каталогу ВИР / VIR catalogue No.	Происхождение Origin	Число проанализированных растений, шт. / Number of analyzed plants	Процент растений, пораженных ЛМР в 2017 г., % / Percentage of DM-infected plants, %	Маркеры генов устойчивости / Markers of resistance genes		
					ORS716_303 (Pl_{arg})	HaP3_1800 (Pl_6)	Ha-P1_2000 (Pl_8)
ВИР 836	3665	*, РФ	24	42,0	–	+	–
ВИР 743	3530	гибрид SW540 × R5E, Франция	33	45,0	–	–	–
ВИР 117А	3669	Г 22, РФ	28	46,4	–	–	–
ВИР 835	3791	*, РФ	12	50,0	–	+	–
ВИР 230	3305	ВИР113 × источник *Rf, Pl,* РФ	19	58,0	+	–	–
ВК-51	2759	*Краснодар, РФ	28	71,0	+	–	–
ВИР 814	3637	и-576407, США	15	80,0	+	–	–
DM-3	625175	*, США	нет данных		–	+	–
НА 336 (*Pl6*)	3799	*, США	нет данных		+	–	
H. argophyllus	545664	*, США	нет данных		+	–	–
Зеленка	733	*, РФ	14	78	–	–	–
ВИР 845 (неустойчивый контроль)	3792	к-3619, США	19	100	–	–	–

Примечание: *Генеалогия неизвестна

Note: *Genealogy is unknown

Продукты амплификации с праймерами к SSR-локусу ORS716 (тесно сцеплен с геном Pl_{arg}) были представлены двумя фрагментами: 303 пн (маркер гена Pl_{arg}) и 325 пн (отсутствие гена устойчивости; Imerovski et al., 2014) (рис. 1). По результатам молекулярного скрининга, диагностический маркер гена Pl_{arg} присутствовал у 14 линий (в том числе у линии ТА 716-18) и образца *H. argophyllus*; у 32 образцов (включая высокоустойчивые линии ВИР 768 и ВИР 800), а также неустойчивого контроля ВИР 845 и образца стародавнего сорта ‘Зеленка’ амплифицировался фрагмент длиной 325 пн, что указывало на отсутствие у них гена устойчивости Pl_{arg}.

Электрофоретические спектры продуктов амплификации с праймерами HaP3 (STS-маркер гена Pl_6) были представлены тремя группами фрагментов: 1800 пн + 1200 пн, 1400 пн + 1100 пн и 1400 пн (рис. 2). По данным С. А. Рамазановой и Т. С. Антоновой (Ramazanova, Antonova, 2019), продукты амплификации с праймерами HaP3 у линии-дифференциатора НА-335, несущей ген Pl_6, включают фрагменты 1100, 1200 и 1800 пн, а восприимчивые генотипы имеют фрагмент размером 1400 пн. Аналогичные результаты получены в работе А. В. Усатова с соавторами (Usatov et al., 2014). Таким образом, фрагмент 1800 пн характерен для носителей гена устойчивости в локусе Pl_6. Фрагмент длиной 1800 пн амплифицировался у 17 линий, а также у линии НА 336, несущей ген Pl_6. У линий ТА 716-18, ВИР 768 и ВИР 800, устойчивых во все годы изучения, амплифицировался фрагмент размером 1400 пн, характерный для восприимчивого генотипа.

При амплификации с праймерами Ha-P1 (локус Pl_5/Pl_8) наблюдали 9 различных сочетаний, различающихся по длине фрагментов (рис. 3). Фрагмент размером 2000 пн, маркирующий ген устойчивости Pl_8 в кластере Pl_5/Pl_8 (Radwan et al., 2004), выявили лишь у пяти линий: высокоустойчивой ТА 716-18, а также ВИР 230, ВИР 370, ВИР 452 и ВИР 583 (все линии характеризовались невысокой степенью поражения). Заметим, что линия ВИР 583 создана на основе линии RHA340, в генотипе которой присутствует ген Pl_8, полученный от *H. argophyllus* (Vear et al., 2010).

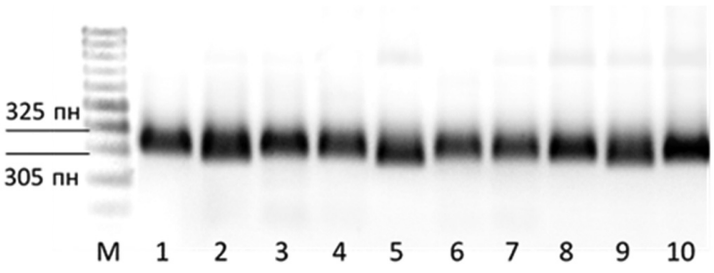

Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации с праймерами ORS716 (локус *Pl*$_{arg}$):
1 – ВИР 845, **2** – ТА 716-18, **3** – ВИР 215А, **4** – ВИР 215Б, **5** – ВИР 370, **6** – ВИР 789, **7** – 'Зеленка', **8** – ВК 51,
9 – *H. argophyllus*, **10** – ВИР 649;
M – маркер молекулярного веса ДНК 100 bp (Диалат)

Fig. 1. Electrophoretic pattern of amplification products with the ORS716 (locus *Pl*$_{arg}$) primers:
1 – VIR 845, **2** – TA 716-18, **3** – VIR 215A, **4** – VIR 215B, **5** – VIR 370, **6** – VIR 789, **7** – 'Zelenka', **8** – VK 51,
9 – *H. argophyllus*, **10** – VIR 649;
M – 100 bp DNA ladder (Dialat)

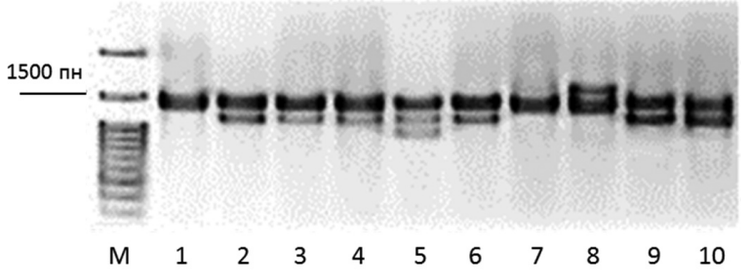

Рис. 2. Электрофореграмма продуктов амплификации с праймерами HaP3 (локус *Pl*$_6$):
1 – ВИР 845, **2** – ВИР 846, 3 – ВИР 801, **4** – ТА 716-18, **5** – НА 336, **6** – ВИР 370, 7 – ВИР 800,
8 – ВИР 581, **9** – ВИР 434А, **10** – ВИР 434Б;
M – ДНК-маркеры 100bp+ 1,5Kb+ 3Kb (СибЭнзим)

Fig. 2. Electrophoretic pattern of amplification products with the HaP3 (locus *Pl*$_6$) primers:
1 – VIR 845, **2** – VIR 846, **3** – VIR 801, **4** – TA 716-18, **5** – HA 336, **6** – VIR 370, **7** – VIR 800,
8 – VIR 581, **9** – VIR 434A, **10** – VIR 434B;
M – 100bp + 1,5Kb + 3Kb DNA ladder (SibEnzyme)

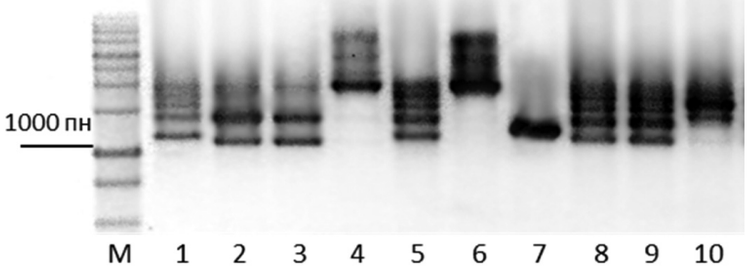

Рис. 3. Электрофореграмма продуктов амплификации с праймерами На-Р1 (локус *Pl*$_5$/*Pl*$_8$):
1 – ВИР 434А, **2** – ВИР 581, **3** – ВИР 801, **4** – ТА 716-18, **5** – ВИР 378, **6** – ВИР 370, **7** – ВИР 769,
8 – ВИР 846, **9** – ВИР 434Б, **10** – ВИР 641;
M – маркер молекулярного веса ДНК 1 kb (Диалат)

Fig. 3. Electrophoretic pattern of amplification products with the Ha-P1 (locus *Pl*$_5$/*Pl*$_8$) primers:
1 – VIR 434A, **2** – VIR 581, **3** – VIR 801, **4** – TA 716-18, **5** – VIR 378, **6** – VIR 370, **7** – VIR 769,
8 – VIR 846, **9** – VIR 434B, 1**0** – VIR 641;
M – 1 kb DNA ladder (Dialat)

Линии, созданные путем многократного самоопыления образца к-3619 из США, обладали разной степенью устойчивости в 2017 г.: у линии ВИР 846 (к-3683) было поражено 3% растений; ВИР 858 (к-3755) – 18%; ВИР 859 (к-3783) – 30%; ВИР 845 (к-3792) – контроль, неустойчивый во все годы изучения, а в 2017 г. пораженный на 100%. У первых двух линий выявлено присутствие гена Pl_{arg}, у двух других маркер этого гена не отмечен. Линии различаются по высоте растения и другим морфологическим признакам. По-видимому, исходный образец был гетерогенным по всем признакам, в том числе и по аллелям генов устойчивости.

Таким образом, по результатам молекулярного скрининга лишь у одной из трех линий, показавших устойчивость в течение трех лет изучения, – ТА 716-18 обнаружены маркеры генов Pl_{arg} и Pl_8, детерминирующих устойчивость к широкому набору рас. У линий ВИР 768 и ВИР 800 не выявили ни одного из диагностических маркеров генов Pl_{arg}, Pl_6 и Pl_8. Тридцать линий, у которых были выявлены маркеры генов Pl_{arg}, Pl_6 и Pl_8, в различной степени (некоторые – очень слабо) поражались возбудителем ЛМР в посеве 2017 г. (см. таблицу).

Следует отметить, что лишь у единичных линий было выявлено по два маркера, что может указывать на присутствие в их генотипах сразу двух генов устойчивости. У линий ТА 716-18, ВИР 370 и ВИР 381 выявлены маркеры ORS716_303 и На-Р1_2000 (генов Pl_{arg} и Pl_8 соответственно), а у линии ВИР 849 – ORS716_303 и НаР3_1800 (Pl_{arg} и Pl_6). Линия ТА 716-18 не имела симптомов поражения в течение трех лет изучения, а линии ВИР 370, ВИР 381 и ВИР 849 были устойчивы в 2018 г., но характеризовались низкой степенью поражения в 2017 г. (соответственно 3, 6 и 5% пораженных растений). В то же время частота поражения остальных линий, имевших по одному из маркеров генов устойчивости, в 2017 г. варьировала от 3% (линия ВИР 769 из межвидового гибрида ВИР 151 × *H. trachelifolius*) до 80% (линия 3637 ВИР 814).

Очевидно, различия по уровню устойчивости обусловлены различиями в расовым составе возбудителя в годы изучения и, что весьма вероятно, появлением новых рас, гены устойчивости к которым в изученном материале отсутствуют. Возможно, в 2017 г. в Краснодарском крае имела распространение раса гриба с широким спектром вирулентности, по отношению к которой гены Pl_{arg}, Pl_6 и Pl_8, обеспечивающие высокий уровень устойчивости к большинству известных рас возбудителя, оказались неэффективными. Кроме того, можно предположить, что линии ТА 716-18, ВИР 768 и ВИР 800 защищены отличающимися от Pl_{arg}, Pl_6 и Pl_8 генами (аллелями) устойчивости, которые эффективны против рас, преобладавших в Краснодарском крае в 2017 г. Поскольку линии ТА 716-18, ВИР 768 и ВИР 800 были получены на основе межвидовых гибридов, можно предположить, что они несут новые аллели/гены, переданные от дикого вида/видов, в данном случае от *H. maximilianii* Schred., *H. giganteus* L. и *H. tuberosus* L. Возможно, это один и тот же ген, носителями которого являются все три вида, поскольку один из геномов у них общий (Gavrilova, Anisimova, 2003).

Лишь одна линия (ВИР 581) из 12 образцов, отмеченных сотрудниками ВНИИМК в качестве устойчивых к трем расам ЛМР (330, 710 и 730) (Antonova et al., 2011), не поражалась грибом в 2016 и 2017 г. и незначительно (3% пораженных растений) – в 2018 г. По результатам молекулярного скрининга у этой линии выявлен маркер гена Pl_6. Полученные нами данные согласуются с известными сведениями о том, что ген Pl_6 определяет устойчивость, в том числе и к расам 330, 710, 730 (Ramazanova et al., 2020).

Среди линий без симптомов поражения ЛМР отмечены ультраранние линии (35–46 дней от всходов до цветения и 67–78 дней от всходов до созревания): ВК 51 (к-2759), ВИР 631 (к-3440), ВИР 789 (к-3702), ВИР 835 (к-3791). Выявлены позднецветушие и позднесозревающие линии (59–61 дней от всходов до цветения, период от всходов до созревания составляет свыше 100 дней). К числу устойчивых относятся линии с цитоплазматической мужской стерильностью ВИР 117, ВИР 215, ВИР 434. Практически все остальные линии ВИР (кроме ВИР 263, ВИР 349 и ВИР 449), показавшие устойчивость в 2016 и 2018 г., обладают способностью восстанавливать фертильность пыльцы ЦМС РЕТ1 и имеют стерильную цитоплазму (за исключением линии ВИР 743) (Gavrilova et al., 2014; Gavrilova et al., 2017). Возможно, это случайное совпадение, так как в исследование были включены еще 17 линий ЦМС РЕТ, которые в те же годы наблюдений не были устойчивы.

Позднее, в 2018 г., в коллекцию подсолнечника ВИР из Генного банка США поступили линии-дифференциаторы рас ложной мучнистой росы: НА 265, RHA 274, НА 335, НА 336, НА R4. Известно, что ген Pl_1 присутствует в линии RHA 265 и контролирует устойчивость к расе 100, ген Pl_2 контролирует устойчивость к расе 300 и выявлен в сорте 'Прогресс'. Ген Pl_6 определяет устойчивость к расам 100, 300, 700, 703, 710, 330, 730 и 770. Указанные гены расположены в восьмой группе сцепления. К этой же группе сцепления относят гены Pl_7, Pl_9, Pl_{10}. Носителем генов Pl_2, Pl_9, Pl_{10} является линия RHA 274; линия НА R4 обладает геном Pl_{16}. Таким образом, коллекция подсолнечника ВИР включает линии отечественной и зарубежной селекции, обладающие устойчивостью к большинству известных к настоящему времени рас возбудителя ложной мучнистой росы.

Заключение

В полевых условиях Кубанской опытной станции в разные годы (2016–2018 гг.) проведения исследований наблюдали различную степень распространения ложной мучнистой росы (возбудитель *Plasmopara halstedii*) на коллекции подсолнечника. Среди 323 линий подсолнечника выявлены 39 линий без симптомов поражения в 2016 и 2018 гг. и 3 линии, устойчивые к патогену в течение трех лет изучения. Линии генотипированы с помощью молекулярных маркеров генов, детерминирующих устойчивость к большому числу рас *P. halstedii*. Три линии характеризовались высоким уровнем устойчивости в годы изучения, в том числе в условиях высокой инфекционной нагрузки. По результатам молекулярного маркирования у линии ТА 716-18 выявлены маркеры генов Pl_{arg} и Pl_8. У линий ВИР 768 и ВИР 800, созданных на основе межвидовых гибридов, молекулярные маркеры генов устойчивости к большинству известных рас патогена отсутствуют, что дает основания предполагать наличие у них новых генов/аллелей устойчивости, интрогрессированных из генома дикого вида.

В результате многолетних исследований, выполненных на базе коллекции генетических ресурсов подсолнечника ВИР, создана признаковая коллекция по устойчивости к ложной мучнистой росе, включающая 12 образцов, устойчивых к трем расам патогена (330, 710, 730) (по данным сотрудников ВНИИМК), 16 линий

с маркером гена Pl_6, 5 линий с маркером, специфичным для локуса Pl_5/Pl_8, и 14 линий с маркером гена Pl_{arg}, а также линии американской селекции НА 265, RHA 274, НА 335, НА 336, НА R4, DM-3. Линии относятся к разным группам спелости, среди них имеются формы ЦМС, закрепители стерильности и восстановители фертильности пыльцы.

Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0662-2019-0001 «Коллекция масличных и прядильных культур ВИР: Изучение и расширение генетического разнообразия».

The research was performed within the framework of the State Task according to the theme plan of VIR, Project No. 0662-2019-0001 "The collection of oil and fiber crops at VIR: maintenance, study, and genetic diversity expansion".

References / Литература

Al-Chaarani G.R., Roustaee A.M., Gentzbittel L., Mokrani L., Barrault G., Dechamp-Guillaume G. et al. A QTL analysis of sunflower partial resistance to downy mildew (*Plasmopara halstedii*) and black stem (*Phoma macdonaldii*) by the use of recombinant inbred lines (RILs). *Theoretical and Applied Genetics*. 2002;104(2-3):490-496. DOI: 10.1007/s001220100742

Anashchenko A.V. Guidelines for the study of the world collection of oil crops. Sunflower (Metodicheskiye ukazaniya po izucheniyu mirovoy kollektsii maslichnykh kultur. Podsolnechnik). G.G. Davidyan (ed.). Leningrad: VIR; 1978. [in Russian] (Анащенко А.В. Методические указания по изучению мировой коллекции масличных культур. Подсолнечник / под ред. Г. Г. Давидяна. Ленинград: ВИР; 1978).

Anisimova I.N., Alpatieva N.V., Abdullaev R.A., Karabitsina Yu.I., Kuznetsova E.B. Screening of plant genetic resources with the use of DNA markers: basic principles, DNA isolation, PCR setup, agarose gel electrophoresis: (guidelines). E.E. Radchenko (ed.). St. Petersburg: VIR; 2018. [in Russian] (Анисимова И.Н., Алпатьева Н.В., Абдуллаев Р.А., Карабицина Ю.И., Кузнецова Е.Б. Скрининг генетических ресурсов растений с использованием ДНК-маркеров: основные принципы, выделение ДНК, постановка ПЦР, электрофорез в агарозном геле: (методические указания) / под ред. Е.Е. Радченко. Санкт-Петербург: ВИР; 2018). DOI: 10.30901/978-5-905954-81-8

Antonova T.S., Ivebor M.V., Rozhkova V.T., Araslanova N.P., Gavrilova V.A. Results of evaluating sunflower accessions from the VIR collection for resistance to the races of false mildew common for Krasnodar Territory. *Bulletin of Applied Botany, of Genetics, and Plant Breeding*. 2011;167:90-95. [in Russian] (Антонова Т.С., Ивебор М.В., Рожкова В.Т., Арасланова Н.М., Гаврилова В.А. Результаты оценки образцов подсолнечника коллекции ВИР на устойчивость к расам возбудителя ложной мучнистой росы, распространенным в Краснодарском крае. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2011;167:90-95).

Bouzidi M.F., Badaoui S., Cambon F., Vear F., de Labrouhe D.T., Nicolas P. et al. Molecular analysis of a major locus for resistance to downy mildew in sunflower with specific PCR-based markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 2002;104(4):592-600. DOI: 10.1007/s00122-001-0790-3

Gascuel Q., Martinez Y., Boniface M.C., Vear F., Pichon M., Godiard L. The sunflower downy mildew pathogen *Plasmopara halstedii*. *Molecular Plant Pathology*. 2015;16(2):109-122. DOI: 10.1111/mpp.12164

Gavrilova V.A., Anisimova I.N. Genetics of cultivated plants. Sunflower. St. Petersburg: VIR, 2003. [in Russian] (Гаврилова В.А., Анисимова И.Н. Генетика культурных растений. Подсолнечник. Санкт-Петербург: ВИР; 2003).

Gavrilova V.A., Rozhkova V.T., Anisimova I.N. Sunflower genetic collection at the Vavilov Institute of Plant Industry. *Helia*. 2014;37(60):1-16. DOI: 10.1515/helia-2014-0001

Gavrilova V.A., Anisimova I. N., Alpatyeva N.V., Rozhkova V.T, Stupnikova T.G. Karbitsina Yu.I., Kuznetsova E.B. Catalogue of the VIR global collection. Issue 853. Sunflower genetic collection. St. Petersburg: VIR; 2017. [in Russian] (Гаврилова В.А., Анисимова Н.И., Алпатьева Н.В., Рожкова В.Т., Ступникова Т.Г., Карабицина Ю.И., Кузнецова Е.Б. Каталог мировой коллекции ВИР. Выпуск 853. Генетическая коллекция подсолнечника. Санкт-Петербург: ВИР; 2017).

Dimitrijevic A., Horn R. Sunflower hybrid breeding: from markers to genomic selection. *Frontiers in Plant Science*. 2018;8:2238. DOI: 10.3389/fpls.2017.02238

Imerovski I., Dimitrijević A., Miladinović D., Jocić S., Dedić B., Cvejić S. et al. Identification and validation of breeder-friendly DNA markers for Pl_{arg} gene in sunflower. *Molecular Breeding*. 2014;34(3):779-788. DOI: 10.1007/s11032-014-0074-7

Korshunova A.F. Downy mildew of sunflower (Mildyu podsolnechnika). In: *Overview of the spread of major mass crop pests and diseases in 1959 and the forecast of their appearance in 1960* (*Obzor rasprostraneniya glavneyshikh massovykh vrediteley i bolezney selskokhozyaystvennykh kultur v 1959 g. i prognoz ikh poyavleniya v 1960 g.*). Moscow: VASKhNIL; 1960. p.144-146. [in Russian] (Коршунова А.Ф. Мильдью подсолнечника. В кн.: *Обзор распространения главнейших массовых вредителей и болезней сельскохозяйственных культур в 1959 г. и прогноз их появления в 1960 г.* Москва: ВАСХНИЛ; 1960. С.144-146).

Li J.T., Yang J., Chen D.C., Zhang X.I., Tang Z.S. An optimized mini-preparation method to obtain high-quality genomic DNA from mature leaves of sunflower. *Genetics and Molecular Research*. 2007;6(4):1064-1071.

Ma G., Song Q., Underwood W.R., Zhang Z., Jason D. Fiedler J.D. et al. Molecular dissection of resistance gene cluster and candidate gene identification of Pl_{17} and Pl_{19} in sunflower by whole-genome resequencing. *Scientific Reports.* 2019;9:14974. DOI: 10.1038/s41598-019-50394-8 1

Mouzeyar S., Tourvieille de Labrouhe D., Vear F. Effect of host-race combination on resistance of sunflower, *Helianthus annuus* L., to downy mildew *Plasmopara halstedii*. *Journal of Phytopatho*logy. 1994;141(3):249-258. DOI: 10.1111/j.1439-0434.1994.tb01468.x

Novotelnova N.S. Downy mildew of sunflower (Lozhnaya muchnistaya rosa podsolnechnika). Moscow; Leningrad: Nauka; 1966. [in Russian] (Новотельнова Н.С. Ложная мучнистая роса подсолнечника. Москва; Ленинград: Наука; 1966).

Pecrix Y., Buendia L., Penouilh-Suzette C., Maréchaux M., Legrand L., Bouchez O. et al. Sunflower resistance to multiple downy mildew pathotypes revealed by recognition of conserved effectors of the oomycete *Plasmopara hal-*

stedii. *The Plant Journal*. 2019;97(4):730-748. DOI: 10.1111/tpj.14157

Pecrix Y., Penouilh-Suzette C., Muños S., Vear F., Godiard L. Ten broad spectrum resistances to downy mildew physically mapped on the sunflower genome. *Frontiers in Plant Science*. 2018;9:1780. DOI: 10.3389/fpls.2018.01780

Qi L.L., Foley M.E., Cai X.W., Gulya T.J. Genetics and mapping of a novel downy mildew resistance gene, *Pl(18)*, introgressed from wild *Helianthus argophyllus* into cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2016;129(4):741-752. DOI: 10.1007/s00122-015-2662-2

Qi L.L., Long Y.M., Jan C.C., Ma G.J., Gulya T.J. *Pl(17)* is a novel gene independent of known downy mildew resistance genes in the cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2015;128(4):757-767. DOI: 10.1007/s00122-015-2470-8

Radwan O., Bouzidi M.F., Nicolas P. Mouzeyar S. Development of PCR markers for the *Pl5/Pl8* locus for resistance to *Plasmopara halstedii* in sunflower, *Helianthus annuus* L. from complete CC-NBS-LRR sequences. *Theoretical and Applied Genetics*. 2004;109:176-185. DOI: 10.1007/s00122-004-1613-0

Radwan O., Bouzidi M.F., Mouzeyar S. Molecular characterization of two types of resistance in sunflower to *Plasmopara halstedii*, the causal agent of downy mildew. *Phytopathology*. 2011;101(8):970-979. DOI: 10.1094/PHYTO-06-10-0163

Radwan O., Bouzidi M.F., Vear F., Philippon J., Tourvieille de Labrouhe D., Nicolas P. et al. Identification of non-TIR-NBS-LRR markers linked to the *Pl5*/*Pl8* locus for resistance to downy mildew in sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*. 2003;106(8):1438-1446. DOI: 10.1007/s00122-003-1196-1

Ramazanova S.A., Antonova T.S. To a question about marking of *Pl* loci controlling sunflower resistance to downy mildew pathogen. *Oil Crops. Scientific and Technical Bulletin of VNIIMK*. 2019;1(177):17-23. [in Russian] (Рамазанова С.А., Антонова Т.С. К вопросу о маркировании локусов *Pl*, контролирующих устойчивость подсолнечника к возбудителю ложной мучнистой росы. *Масличные культуры. Научно-технический бюллетень ВНИИМК*. 2019;1(177):17-23). DOI: 10.25230/2412-608X-2019-1-177-17-23

Ramazanova S.A., Badyanov E.V., Guchetl S.Z. Molecular markers of genes Pl_6, Pl_{13} and Pl_{arg} for sunflower breeding on resistance to downy mildew. *Oil Crops. Scientific and Technical Bulletin of VNIIMK*. 2020;3(183):20-27. [in Russian] (Молекулярные маркеры генов Pl_6, Pl_{13} и Pl_{arg} для использования в селекции подсолнечника на устойчивость к ложной мучнистой росе. *Масличные культуры. Научно-технический бюллетень ВНИИМК*. 2020;3(183):20-27). DOI: 10.25230/2412-608X-2020-3-183-20-26

Spring O. Spreading and global pathogenic diversity of sunflower downy mildew – Review. *Plant Protection Science*. 2019;55(3):149-158. DOI: 10.17221/32/2019-PPS

Usatov A.V., Klimenko A.I., Azarin K.V., Gorbachenko O.F., Markin N.V., Tikhobaeva V.E. et al. DNA-markers of sunflower resistance to the downy mildew (*Plasmopara halstedii*). *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. 2014;10(2):125-129. DOI: 10.3844/ajbbsp.2014.125.129

Vear V. Classic genetics and breeding. In: J. Hu, G. Seiler, Ch. Kole (eds). *Genetics, Genomics and Breeding of Sunflower*. Enfield, NH: Science Publishers; 2010. p. 50-77.

Wieckhorst S., Bachlava E., Dussle C.M., Tang S., Gao W., Saski C. et al. Fine mapping of the sunflower resistance locus Pl_{arg} introduced from the wild species *Helianthus argophyllus*. *Theoretical and Applied Genetics*. 2010;121(8):1633-1644. DOI: 10.1007/s00122-010-1416-4

Прозрачность финансовой деятельности / The transparency of financial activities

Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

The authors declare the absence of any financial interest in the materials or methods presented.

Для цитирования / How to cite this article

Гаврилова В.А., Ступникова Т.Г., Макарова Л.Г., Алпатьева Н.В., Карабицина Ю.И., Кузнецова Е.Б., Анисимова И.Н. Линии генетической коллекции подсолнечника ВИР, устойчивые к ложной мучнистой росе. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2021;182(3):101-110. DOI: 10.30901/2227-8834-2021-3-101-110

Gavrilova V.A., Stupnikova T.G., Makarova L.G., Alpatieva N.V., Karabitsina Yu.I., Kuznetsova E.B., Anisimova I.N. Lines resistant to downy mildew in the sunflower genetic collection at VIR. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2021;182(3):101-110. DOI: 10.30901/2227-8834-2021-3-101-110

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы / The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work

Дополнительная информация / Additional information

Полные данные этой статьи доступны / Extended data is available for this paper at https://doi.org/10.30901/2227-8834-2021-3-101-110

Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы / The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employer

Авторы одобрили рукопись / The authors approved the manuscript

Конфликт интересов отсутствует / No conflict of interest

ORCID
Gavrilova V.A. https://orcid.org/0000-0002-8110-9168
Alpatieva N.V. https://orcid.org/0000-0002-5531-2728
Karabitsina Yu.I. https://orcid.org/0000-0002-8384-5134
Kuznetsova E.B. https://orcid.org/0000-0002-9804-1286
Anisimova I.A. https://orcid.org/0000-0003-0474-8860