

ГЕНЕТИКА КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ И ИХ ДИКИХ РОДИЧЕЙ

Научная статья

УДК 633.174:575.1.2:577.1.2

DOI: 10.30901/2227-8834-2024-4-118-129



Генетическое разнообразие образцов кафрского сорго из коллекции ВИР по кафирин-кодирующим локусам

Н. В. Алпатьева, И. Н. Анисимова, М. К. Рязанова, В. В. Васипов, Р. А. Абдуллаев, О. И. Романова, Е. Е. Радченко

*Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений
имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия***Автор, ответственный за переписку:** Ирина Николаевна Анисимова, irina_anisimova@inbox.ru

Актуальность. Сорго – характеризующаяся высокой засухоустойчивостью универсальная культура, широко возделываемая во всем мире. Его зерно имеет ценный биохимический состав и используется в качестве фуража, а также как продукт питания. Благодаря уникальной структуре запасных белков эндосперма – кафиринов – включение сорговой муки в тесто перспективно для получения компонентов диетического питания. Изучение разнообразия образцов кафрского сорго из коллекции ВИР по биохимическим и морфологическим признакам зерна и полиморфным ДНК-маркерам как возможных доноров для получения стерильных линий и закрепителей стерильности актуально.

Материалы и методы. Шестнадцать образцов кафрского сорго фенотипировали по морфологическим признакам зерна, составу электрофоретических спектров кафиринов, а также генотипировали с помощью специфичных для генов этих белков ПЦР-маркеров. Фенотип зрелых зерен оценивали по цвету семенной оболочки, а также соотношению толщин стекловидного и мучнистого слоев эндосперма на срезах. Белки разделяли с помощью электрофореза в полиакриламидном геле. В ПЦР-анализе использовали SSR-маркеры, сцепленные с генами β - и γ -кафиринов, а также STS-маркер кодирующего участка гена δ -кафирина.

Результаты и выводы. Образцы изученной выборки различались по окраске зерна и структуре эндосперма. Три образца характеризовались значительной толщиной стекловидного слоя, остальные – мучнистым либо частично стекловидным эндоспермом. Не выявлено отличий между образцами по электрофоретическим спектрам кафиринов. В то же время образцы характеризовались высоким уровнем полиморфизма фрагментов, амплифицированных с праймерами, фланкирующими микросателлитные последовательности, сцепленные с генами β - и γ -кафиринов. Два варианта STS-маркера, отличавшихся по последовательности, обнаружены при амплификации с праймерами, специфичными для участка гена, кодирующего δ -кафирин. Изученные образцы дифференцированы после обработки результатов с помощью метода анализа главных координат (PCoA).

Ключевые слова: *Sorghum caffrorum*, эндосперм, β -, γ - и δ -кафирины, электрофорез, ПЦР, маркеры, полиморфизм

Благодарности: работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № FGEM-2022-0009 «Структурирование и раскрытие потенциала наследственной изменчивости мировой коллекции зерновых и крупяных культур ВИР для развития, оптимизированного генбанка и рационального использования в селекции и растениеводстве».

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Для цитирования: Алпатьева Н.В., Анисимова И.Н., Рязанова М.К., Васипов В.В., Абдуллаев Р.А., Романова О.И., Радченко Е.Е. Генетическое разнообразие образцов кафрского сорго из коллекции ВИР по кафирин-кодирующим локусам. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2024;185(4):118-129. DOI: 10.30901/2227-8834-2024-4-118-129

GENETICS OF CULTIVATED PLANTS AND THEIR WILD RELATIVES

Original article

DOI: 10.30901/2227-8834-2024-4-118-129

Genetic diversity of kaffir sorghum accessions from the VIR collection in kafirin-encoding loci

Natalia V. Alpatieva, Irina N. Anisimova, Maria K. Ryazanova, Vladimir V. Vasipov, Renat A. Abdullaev,
Olga I. Romanova, Evgeny E. Radchenko

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

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

Background. Sorghum is a universal, highly drought-resistant crop, widely cultivated throughout the world. Sorghum grain has a valuable biochemical composition and is utilized in both food and feed production. Due to the unique structure of endosperm storage proteins, kafirins, adding sorghum flour to dough is promising for producing dietetic nutrition components. Employing polymorphic DNA markers to study the diversity of kaffir sorghum accessions from the VIR collection as potential donors of biological and morphological traits in their grain is relevant for the development of sterile lines and sterility maintainers.

Materials and methods. Sixteen kaffir sorghum accessions were phenotyped according to morphological features and kafirin electrophoretic banding patterns in their grain, and genotyped using PCR markers specific for kafirin-encoding genes. The phenotype of mature grains was assessed by seed coat color as well as by the thickness ratio between the vitreous and farinaceous endosperm layers on grain cuts. Proteins were fractionated by polyacrylamide gel electrophoresis. The SSR markers linked to the genes for β - and γ -kafirins, and the STS marker of the coding region of the δ -kafirin gene were used in the PCR analysis.

Results and conclusions. The studied accessions differed in grain color and endosperm structure. Three accessions demonstrated a significant thickness of the vitreous layer, while the others had a farinaceous or partially vitreous endosperm. No differences were found among the accessions in the kafirin electrophoretic banding patterns. Meanwhile, the accessions manifested highly polymorphic fragments amplified with primers flanking microsatellite sequences linked to the β - and γ -kafirin genes. Two different versions of the STS marker were detected after amplification with the primers specific to the δ -kafirin-coding gene region. The studied accessions were differentiated using the principal coordinates analysis (PCoA).

Keywords: *Sorghum caffrorum*, endosperm, β -, γ - and δ -kafirins, electrophoresis, PCR, markers, polymorphism

Acknowledgements: the study was carried out within the framework of the state task according to the thematic plan of VIR, Project No. FGEM-2022-0009 "Structuring and disclosing the potential of hereditary variation in the global collection of cereal and groat crops at VIR for the development of an optimized genebank and its sustainable utilization in plant breeding and crop production".

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

For citation: Alpatieva N.V., Anisimova I.N., Ryazanova M.K., Vasipov V.V., Abdullaev R.A., Romanova O.I., Radchenko E.E. Genetic diversity of kaffir sorghum accessions from the VIR collection in kafirin-encoding loci. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2024;185(4):118-129. DOI: 10.30901/2227-8834-2024-4-118-129

Введение

Сорго (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) – универсальная культура, широко возделываемая во всем мире. Сорго является многоцелевой культурой. Значительная часть зерна идет для промышленной переработки на муку и крупу, а также спирт, крахмал и патоку (<https://www.fao.org/statistics/en>). В России сорго в основном используется на фураж (силос, зеленый корм, сено, выпас), а также для производства бумаги, дубильных и красящих веществ, веников, щеток и т. п.

Существует несколько классификаций сорго, основанных на таксономических признаках (Snowden, 1935; Jakushevsky, 1969; Ivanyukovich, Doronina, 1980). По классификации Е. Я. Якушевского выделяют 4 хозяйственные группы сорго: зерновое, сахарное, веничное и травянистое. Наибольшим разнообразием отличается зерновое сорго, которое является самым древним по происхождению. Огромное разнообразие этой группы делится на 5 видов, которые приурочены к отдельным эколого-географическим очагам (центрам) формообразования в Африке и Азии.

Сорго зерновое гвинейское (*S. guineense* (Stapf) Jakushev.), иногда называемое голозерное, характерно для стран Западной Африки; сорго зерновое кафрское (*S. caffrorum* (Beauv.) Jakushev.) происходит из Южной Африки; сорго зерновое негритянское (*S. bantuorum* Jakushev.) наиболее разнообразно в странах Центральной и Восточной Экваториальной Африки; сорго зерновое хлебное (*S. durra* (Forsk.) Jakushev.) происходит, прежде всего, из стран Северо-Восточной Африки, Ближнего и Среднего Востока, а сорго зерновое китайское (*S. chinense* Jakushev.), или гаолян, характеризуется наиболее широким разнообразием в странах Восточной Азии (Jakushevsky, 1969).

В ряде стран Африки и Азии, характеризующихся засушливым климатом, сорго является основной продовольственной культурой, а в России используется преимущественно на фуражные цели. Сорго превосходит кукурузу по составу аминокислот и витаминов группы В, что позволяет рассматривать его как перспективный источник кормов для птицы (Kurbonov, Khaitov, 2023). В последние годы возрос интерес к сорго как пищевому растению. Добавление муки сорго к пшеничной муке улучшает физико-химические показатели теста (Antimonov et al., 2021). В селекции зернового сорго большое значение имеет цвет зерна: наиболее востребованными являются белозерные формы, однако, в связи с возросшим интересом к антиоксидантам, увеличивается интерес и к сортам с «окрашенным» зерном.

Зерно сорго содержит различные биоактивные вещества; в экспериментах подтверждено их положительное влияние для профилактики ряда неинфекционных заболеваний. В перикарпии зерновки в значительных количествах обнаружены пищевые волокна, фенольные компоненты (3-дезоксидеоксиантоцианидины), танины, поликозанола. Зародыш богат липидами, жирорастворимыми витаминами, витаминами группы В и минералами. Вещества, определяющие питательную ценность соргового зерна, находятся в эндосперме, на долю которого приходится 75–85%. В состав эндосперма входят углеводы, белки, комплекс витаминов В и микроэлементы (De Morais Cardoso et al., 2017; Mawouma et al., 2022). Питательная ценность зерна определяется высоким содержанием крахмала (70–75%), белка (9–15%), жира (3,5%),

а также наличием 17 незаменимых аминокислот (Antimonov et al., 2021).

Сорго отличается от многих зерновых культур (пшеница, рожь, ячмень) уникальной структурой запасных белков эндосперма, благодаря чему продукты с включением сорговой муки могут быть использованы в безглютеновых диетах. Главные запасные белки зерна сорго – кафирины – относятся к группе проламинов. Их содержание в белковой фракции эндосперма достигает 70–80% (Belton et al., 2006). Название «проламин», предложенное Т. Б. Осборном (Osborne, 1924), связано с высоким содержанием пролина и глутамина. Во фракции кафирина они составляют 30% от общего количества аминокислотных остатков (Belton et al., 2006). Из-за сходства с зеинами по физико-химическим свойствам субъединицы главных запасных белков зерна сорго первоначально классифицировали как α -, β -, γ - и δ -кафирины (Shull et al., 1991). В более поздних исследованиях показано, что кафирины отличаются от зеинов большей гидрофобностью и преобладанием α -спиральных вторичных структур. Согласно современной номенклатуре, выделяют следующие фракции кафиринов, различающихся по последовательностям и молекулярной массе: α -кафирин 1 (Мг ~ 25 кДа), α -кафирин 2 (25 кДа), β -кафирин (19 кДа), γ -кафирин 1 (27 кДа), γ -кафирин 2 (50 кДа) и δ -кафирин (18 кДа) (El'konin et al., 2016; Elkonin et al., 2019). Подобно зеинам кукурузы, кафирины локализованы на эндоплазматическом ретикулуме эндосперма в сферических белковых тельцах с гранулами крахмала внутри. Зрелые зерна сорго, как и зерна кукурузы, имеют схожий состав эндосперма: стекловидный на периферии с непрозрачной мучнистой центральной областью. Твердый стекловидный слой защищает зерновку от насекомых, грибов и механических повреждений во время сбора урожая. Именно в стекловидном слое содержание проламинов выше, чем во внутреннем мучнистом слое (Wu et al., 2013; Holding, 2014).

Кафирины классов β и γ локализованы в периферической части этих структур, а кафирины α и δ находятся во внутреннем районе (Shull et al., 1991; Shewry, Halford, 2002; Wong et al., 2009; Wu et al., 2013; El'konin et al., 2016). Кафирины β и γ обогащены остатками цистена, которые образуют дисульфидные связи и блокируют протеолитическим ферментам доступ к α -кафиринам (Wong et al., 2009). Синтез β , γ и δ контролируется единичными локусами, тогда как α -кафирины кодируются мультигенными семьями. Например, в одном локусе на хромосоме 5 референсного генома ВТх623 картированы 20 генов α -кафиринов, возникших путем дупликаций (Xu, Messing, 2008). Гены β -, γ - и δ -кафиринов локализованы на хромосомах 9, 2 и 10 генома сорго. Изучен полиморфизм последовательностей этих генов, разработаны молекулярные маркеры для идентификации аллельных вариантов (Laidlaw et al., 2010).

На практике запасные белки широко используют для изучения внутривидового полиморфизма и идентификации сортов пшеницы, ржи, ячменя, кукурузы и других культивируемых злаков (Koparev et al., 2000). Для оценки генетического разнообразия образцов сорго применяют как электрофоретический анализ кафиринов в полиакриламидном геле (в разных модификациях, позволяющих разделять молекулы белка в зависимости от их длины, заряда или вторичной структуры), так и полиморфные ДНК-маркеры (Chamba et al., 2005; Laidlaw et al., 2010; Li et al., 2018; Aniskina et al., 2019).

Цель настоящей работы – структурирование выборки образцов кафрского сорго по комплексу признаков: окраска семенной оболочки, стекловидность/мучнистость семян, профиль суммарной фракции запасных белков и вариабельность ДНК-маркеров генов β -, γ - и δ -кафиринов.

Материал и методы

Материал

Материалом для исследования послужила рандомизированная выборка из 16 образцов кафрского сорго (*S. caffrorum*) коллекции ВИР разного происхождения. Анализировали семена, репродуцированные в теплицах научно-производственной базы «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» (Санкт-Петербург, г. Пушкин) в 2022 г. (табл. 1). В работе использовали также стерильную линию Низкорослое 81с (ЦМС A1 milo) и линию 929-3 – восстановитель фертильности пыльцы, отобранную из образца хлебного сорго (*S. durra*) Джугара белая (к-929, западный Китай).

Фенотипирование зерен кафрского сорго

Цвет зерновки оценивали визуально. Для определения толщины стекловидного эндосперма делали поперечные и продольные срезы зерновки, фотографиро-

вали с помощью микроскопа Zeiss Stereo Discovery V8, затем проводили их анализ. Толщину стекловидного слоя измеряли в миллиметрах в нескольких точках на срезах. Контролями служили линии Низкорослое 81с (мучнистый, непрозрачный эндосперм с тонким слоем стекловидного эндосперма) и 929-3 (стекловидный эндосперм с незначительными вкраплениями мучнистого слоя).

Электрофоретический анализ кафиринов

Кафирины извлекали из половинок отдельных зерновок. Для анализа брали 2–3 зерновки каждого образца. Каждую половинку измельчали, полученную муку переносили в пробирку типа Ерпендорф объемом 1,5 мл и добавляли 80 мкл 65-процентного изопропанола и 8 мкл β -меркаптоэтанола. Смесь перемешивали и оставляли на рабочем столе при комнатной температуре на 40 мин, затем пробы центрифугировали при 12 000 об./мин, отбрасывали 40 мкл супернатанта и смешивали с 60 мкл 10М мочевины (Khomutnikova, 1992).

Электрофорез проводили по методике Л. А. Хомутниковой (Khomutnikova, 1992) в пластинах полиакриламидного геля в ацетатном буфере (0,013М уксусная кислота, pH 3,1). Использовали приборы для вертикального электрофореза с размером стекол 120 × 120 × 1 мм. Гелевая пластина содержала 7,5% акриламида, 7 М мочевины и 5% уксусной кислоты. В каждую лунку геля наносили

Таблица 1. Изученные образцы сорго из коллекции ВИР

Table 1. Sorghum accessions from the VIR collection used in this study

№ по каталогу ВИР / VIR catalogue No.	Образец * / Accession *	Происхождение / Origin
	929-3	Китай
	Низкорослое 81с	Украина
161	Sunrise caffir	США
198	Red Kaffir	США
239	White Kaffir Corn	США
244	Blackhull Kaffir	США
245	Blackhull Kaffir	США
251	Sunrise kaffir	США
295	Китайское	США
584	Red Kaffir	США
679	Red Blackhull Kaffir	США
684	Кафрское розовое	США
1217	Blackhull Kaffir	Южная Африка
1611	Red Kaffir	США
1764	Blackhull White Kaffir Corn	Южная Африка, Трансвааль
1786	Розовое кафрское	Волгоградская область
3023	Texas Kafir	Бразилия
3561	Sorghum Blackhull Kaffir	США

Примечание: * – названия образцов приведены в соответствии с каталогом ВИР

Note: * – accession names are given in accordance with the VIR catalogue

по 25 мкл белкового экстракта. Электрофорез проводили в течение 4,5 ч. Первые 40 мин электрофорез вели при 100 В, затем устанавливали напряжение 600 В, которое поддерживали до окончания электрофореза. После электрофореза белки фиксировали и окрашивали в краситель по П. Дж. Ригетти и Ф. Киллеми (Righetti, Chillemi, 1978) (0,075% Coomassie G-250 в 12,5-процентной трихлоруксусной кислоте) в течение 24–48 ч, а по истечении времени окрашивания фон от красителя отмывали дистиллированной водой. Визуализацию гелей проводили в гель-документирующей системе ChemiDoc (Bio-Rad).

Выделение ДНК, ПЦР и электрофорез ампликонов в полиакриламидном (ПААГ) или агарозном гелях

ДНК выделяли индивидуально из двух-трех растений SDS-буфером, pH 7,5 (Dorokhov, Kloke, 1997) с модификациями, подробное описание которых представлено в методических указаниях (Anisimova et al., 2018). Для генотипирования использовали праймеры к микросателлитным повторам во фланкирующих последовательностях генов β - и γ -кафиринов, а также праймеры к STS-маркеру кодирующей (транслируемой) последовательности гена δ -кафирина (Laidlaw et al., 2010). Последовательности олигонуклеотидов, условия ПЦР и ожидаемая длина ампликонов, а также хромосомная локализация анализируемых генов представлены в таблице 2. ПЦР проводили в 25 мкл смеси, содержащей 2–3 мМ $MgCl_2$, 0,2 мМ каждого из dNTPs, 200 нМ каждого праймера, 1 е. а. Taq ДНК полимеразы («Диалат», Москва) и около 50 нг геномной ДНК. ПЦР проводили на приборе MiniAmp Plus (Thermo Fisher Scientific, США). Прямые праймеры к микросателлитным повторам были мечены флуоресцентными красителями («Евроген», Москва). Фрагменты ПЦР с флуоресцентной меткой анализировали на генетическом анализаторе «Нанофор-05» («Синтол», Россия) в ПААГ. Длину фрагмента определяли с помощью маркера ММ (С-450, «Синтол»). Перед началом анализа фрагменты денатурировали в течение 5 мин при 95°C. Амплифицированные фрагменты гена δ -кафирина окрашивали в растворе бромистого этидия, анализировали в 1,5-процентном агарозном геле и секвенировали.

Секвенирование фрагментов кодирующей последовательностей δ -кафирина

Нуклеотидные последовательности ампликонов, полученных с помощью праймеров dKaf, определяли на генетическом анализаторе «Нанофор-05», используя набор реагентов для секвенирования ДНК по методу Сенгера GenSeq согласно инструкции фирмы-производителя («Синтол», Россия).

Статистический анализ

Структурирование изучаемой выборки образцов из коллекции ВИР по наличию/отсутствию у них амплифицированных фрагментов проводили с помощью анализа главных координат (PCoA) (Price et al., 2006; Peakall, Smouse, 2012) в программе GenAlEx 6.5. Данные молекулярного скрининга были представлены в виде бинарной матрицы, где 0 – отсутствие, а – наличие ампликона определенного размера.

Результаты

В зависимости от окраски семенной оболочки зерно изучаемых образцов было дифференцировано на красное (к-198, к-295, к-584, к-1611), розовое (к-161, к-239,

к-244, к-245, к-679, к-684, к-1217, к-1764, к-1786, к-3023, к-3561) и белое (к-251). Толщина стекловидного слоя у образцов к-295, к-1217 и к-3561 была значительной и достигала 1 мм при диаметре зерновки около 2 мм. Сходное строение имел стекловидный эндосперм линии хлебного сорго 929-3 с единичными вкраплениями мучнистого эндосперма (рис. 1, табл. 3). У остальных образцов эндосперм был мучнистым (толщина стекловидного слоя не превышала 0,5 мм) либо частично стекловидным (толщина слоя составила 0,6–0,8 мм).

По результатам электрофореза в ПААГ, pH 3,1 (Khotutnikova, 1992), все образцы кафрского сорго и стерильная линия Низкорослое 81с характеризовались одинаковыми спектрами кафиринов. Вариативность интенсивности компонентов в спектрах к-244 и к-245 можно объяснить различиями в выполненности анализируемых зерен. Выявлено восемь четко идентифицируемых компонентов и несколько минорных. Уникальный электрофоретический профиль белков имела лишь линия хлебного сорго 929-3 (рис. 2).

Таким образом, с помощью электрофоретического анализа кафиринов не удалось выявить различия между образцами кафрского сорго. Поэтому дальнейший анализ проводили с использованием ДНК-маркеров, сцепленных с генами кафиринов: SSR-маркеры генов β - и γ -кафиринов, а также STS-маркер, локализованный в кодирующей области гена δ -кафирина. У изученных образцов наблюдали высокий уровень полиморфизма фрагментов, амплифицированных с праймерами, фланкирующими микросателлитные последовательности, сцепленные с генами β - и γ -кафиринов. Так, полиморфизм SSR-маркера bKAF_SSR1, фланкирующего стартовый кодон гена β -кафирина, обусловлен числом повторов мотива (CT) SSR-маркеров. У референсных последовательностей CP137843.1 и CP137833.1 этот фрагмент имеет длину 206 и 208 пн соответственно, а в исследованном пуле образцов найдено 9 вариантов длиной 202, 212, 214, 218, 220, 224, 226, 228 и 242 пн (см. табл. 3). Вариативность другого маркера этого гена – bKAF_SSR2, локализованного на расстоянии около 3000 пн от терминирующего кодона, – определяется числом повторов (TACA). В референсных последовательностях длина фрагментов составляет 240 пн и 220 пн, тогда как среди образцов кафрского сорго найдено 7 вариантов меньшей длины и с меньшим числом повторов: 142, 158, 182, 186, 190, 206 и 210 пн (см. табл. 3).

Полиморфизм маркера гена γ -кафирина gKAF_SSR, расположенного на расстоянии примерно 10 000 пн от терминирующего кодона гена, определяется числом микросателлитных повторов (AT). В референсных последовательностях CP137836.1 и CP137826.1 длина фрагмента составляет соответственно 189 пн и 187 пн, а у исследуемых образцов найдено 4 варианта: 193, 197, 199 и 201 пн (см. табл. 3).

Полиморфизм STS-маркера dKaf (см. табл. 2), позволяющего дифференцировать 3 варианта последовательности гена δ -кафирина у сорго (Laidlaw et al., 2010), определяется наличием двух инсерций в кодирующем районе общей длиной 39 пн и нескольких SNP. У образцов к-161, к-679, к-1217, к-1764, к-3023 и к-3561 амплифицирован фрагмент гена длиной 642 пн, то есть найден аллель, кодирующий белок длиной 135 аминокислот. У образцов к-198, к-239, к-244, к-245, к-251, к-295, к-584, к-684, к-1611 и к-1786 длина ампликона составляла 681 пн (рис. 3). По результатам секвенирования фрагменты оказались идентичны последовательности

Таблица 2. Праймеры к микросателлитным повторам во фланкирующих последовательностях генов β- и γ-кафиринов и кодирующей последовательности гена δ-кафирина (Laidlaw et al., 2010)

Table 2. Primers to microsatellite repeats within the flanking sequences of the β- and γ-kafirin genes, and the coding sequence of δ-kafirin (Laidlaw et al., 2010)

Ген / Gene	Локализация / Localization	Праймер / Primer	Последовательность (5' → 3') / Sequence (5' → 3')	Условия ПЦР / Conditions of PCR		Длина фрагмента в референсных последовательностях / GenBank: / Fragment length in reference sequences / GenBank:
				Концентрация MgCl ₂ в ПЦР-смеси, мМ / Concentration of MgCl ₂ in the PCR mixture	t° отжига / Annealing temperature	
δ-кафирин	Ch10	dKaf_F	GCCAAGTCATCCAGCTTATCCAGC	3 мМ	53°С	642 пн / CP137844.1 681 пн / GU732411.1 681 пн / GU732412.1
		dKaf_R	GAGTCACATGCGGATGGCATGTCAAC			
β-кафирин	Ch9	bKAF_SSR1_F	CGAGCCCAAGGTACCATCT	2 мМ	59°С	206 пн / CP137843.1 208 пн / CP137833.1
		bKAF_SSR1_R	AACCTCCCTCCCCCTTTGTAA			
β-кафирин	Ch9	bKAF_SSR2_F	AAGGGGCTGTGCAAGCTAT	2 мМ	55°С	240 пн / CP137843.1 220 пн / CP137833.1
		bKAF_SSR2_R	TCAGAGAGTTGGTGAGGAAAA			
γ-кафирин	Ch2	gKAF_SSR_F	TGCTATTTCGTTTGTATCACCTATG	2 мМ	55°С	189 пн / CP137836.1 187 пн / CP137826.1
		gKAF_SSR_R	GTGGCCTTGTGGTCACATTTT			



Рис. 1. Фенотипическое разнообразие зерен кафрского сорго



(– черта внизу = 1 мм и применяется ко всем изображениям)

Fig. 1. Phenotypic diversity of kaffir sorghum grains.



(– the line at the bottom = 1 mm, and is applicable to all images)

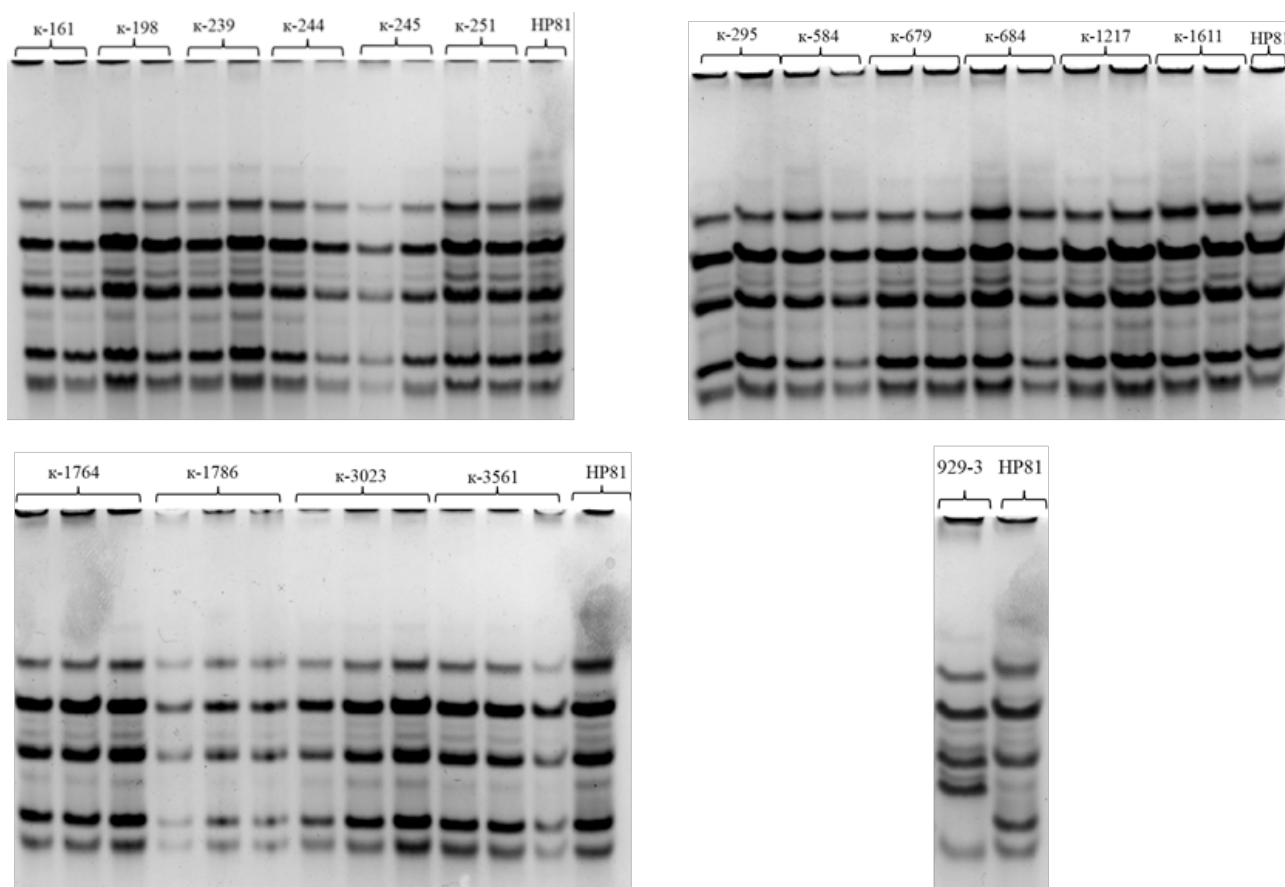


Рис. 2. Электрофоретические спектры кафиринов 16 образцов кафрского сорго
(линия 929-3 – восстановитель фертильности пыльцы; HP81 – стерильная линия Низкорослое 81с)

Fig. 2. Electrophoretic banding patterns of kafirins from 16 kaffir sorghum accessions
(929-3 – pollen fertility restorer; HP81 – sterile line Nizkorosloe 81с)

Таблица 3. Разнообразие образцов кафрского сорго по цвету зерновки, толщине стекловидного слоя эндосперма и молекулярным маркерам**Table 3. Diversity of kaffir sorghum accessions in grain color, vitreous endosperm layer thickness, and molecular markers**

№ по каталогу ВИР / VIR catalogue No.	Образец / Accession	Размер ПЦР продукта, полученного с помощью праймеров: / Size of the PCR product amplified with the primers:				Цвет зерна / Grain color	Толщина стекловидного слоя, мм / Vitreous layer thickness, mm
		bKAF SSR1	bKAF SSR2	gKAF SSR	dKaf		
	Низкорослое 81с	220	158	197	681	красный	0,4–0,5
	929-3	202	206	201	642	белый	0,4–1,0
161	Sunrise caffir	212	206	197	642	розовый	0,3–0,6
198	Red Kaffir	224	141	197	681	красный	0,1–0,2
239	White Kaffir Corn	220	158	199	681	белый	0,2–0,5
244(а)*	Blackhull Kaffir	224	158	197	681	розовый	0,5–0,7
244(б)*	Blackhull Kaffir	220	158	197	681		
245(а)*	Blackhull Kaffir	218	158	197	681	розовый	0,2–0,5
245(б)*	Blackhull Kaffir	220	158	197	681		
251	Sunrise kaffir	214	206	197	681	белый	0,1–0,2
295	Китайское	228	182	193	681	красный	0,2–1,0
584(а)*	Red Kaffir	228	186	193	681	красный	0,1–0,3
584(б)*	Red Kaffir	228	182	193	681		
679	Red Blackhull Kaffir	220	158	199	642	розовый	0,2–0,4
684(а)*	Кафрское розовое	228	182	193	681	розовый	0,1–0,4
684(б)*	Кафрское розовое	242	182	193	681		
1217	Blackhull Kaffir	222	158	199	642	розовый	0,3–1,0
1611	Red Kaffir	228	190	193	681	красный	0,2–0,4
1764	Blackhull White Kaffir Corn	220	158	199	642	розовый	0,3–0,7
1786	Розовое кафрское	228	182	193	681	розовый	0,2–0,4
к-3023	Tehas Kafir	226	158	199	642	розовый	0,4–0,7
к-3561	Sorghum Blackhull Kaffir	222	158	199	642	розовый	0,4–1,0

Примечание: (а) и (б)* – отдельные растения в гетерогенных образцах

Note: (a) and (b)* – individual plants of heterogeneous accessions

GenBank:GU732411, а предполагаемая белковая последовательность длиной 148 аминокислот имела характерные для этого варианта δ-кафирина вставки аминокислот ALP и PМММРPTММР. Два варианта белка существенно различаются по аминокислотному составу прежде всего тем, что более «длинный» вариант имеет 6 дополнительных остатков незаменимой аминокислоты метионина (рис. 4). Последовательность, идентичная GU732412.1 и обозначенная Н. К. С. Laidlaw с соавторами как аллель 3 (Laidlaw et al., 2010), в исследованных образцах не обнаружена.

После обработки данных молекулярного скрининга с помощью метода главных координат РСоА удалось

дифференцировать почти все изучаемые образцы кафрского сорго. Образцы к-244, к-245, к-584 и к-684 оказались гетерогенными, причем во всех случаях растения различались по вариантам SSR-маркеров, сцепленных с геном β-кафирина. Напротив, идентичные профили ДНК-маркеров имели все растения образцов к-1786, к-295 и одно растение образца к-684, а также к-3561 и к-1217. Предсказуемо линия 929-3 отличалась от всех изученных образцов, тогда как стерильная линия Низкорослое 81с, при создании которой кафрское сорго использовали в качестве отцовской формы, имела профиль маркеров, идентичный таковому растений гетерогенных образцов к-245 и к-244 (рис. 5).

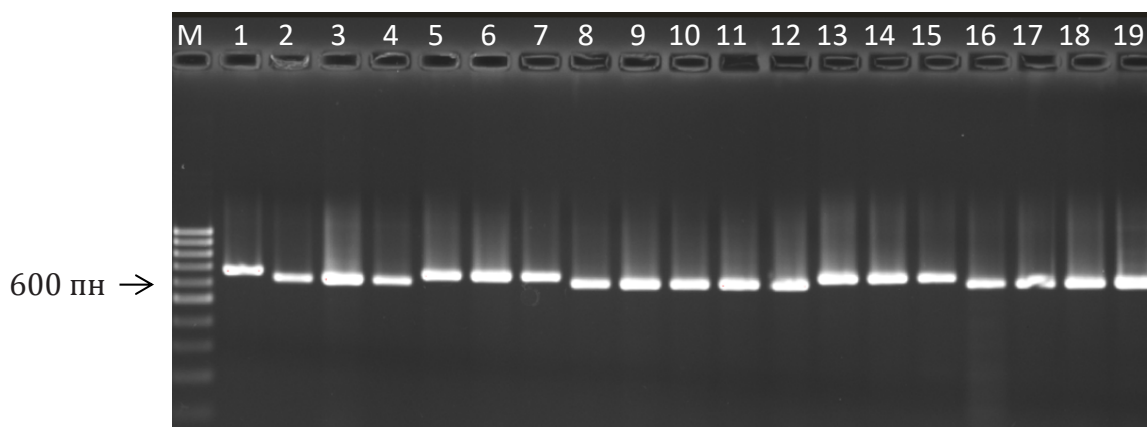


Рис. 3. Электрофореграмма фрагментов гена δ -кафирина, амплифицированных у образцов кафрского сорго: 1 – к-584; 2–4 – к-679; 5–7 – к-684; 8–12 – к-1217; 13–15 – к-1611; 16–19 – к-1764; М – маркер молекулярного веса ДНК

Fig. 3. Electrophoregram of δ -kafirin gene fragments amplified from kaffir sorghum accessions: 1 – к-584; 2–4 – к-679; 5–7 – к-684; 8–12 – к-1217; 13–15 – к-1611; 16–19 – к-1764; M – DNA molecular weight marker

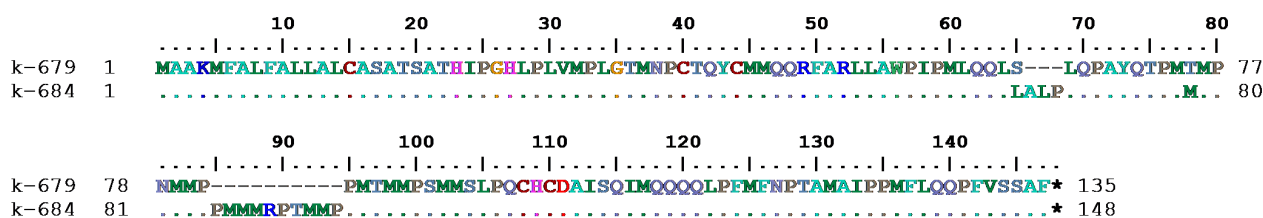


Рис. 4. Выравнивание предполагаемых аминокислотных последовательностей δ -кафиринов из образцов кафрского сорго к-679 и к-684

Fig. 4. Alignment of translated δ -kafirin amino acid sequences from kaffir sorghum accessions k-679 and k-684

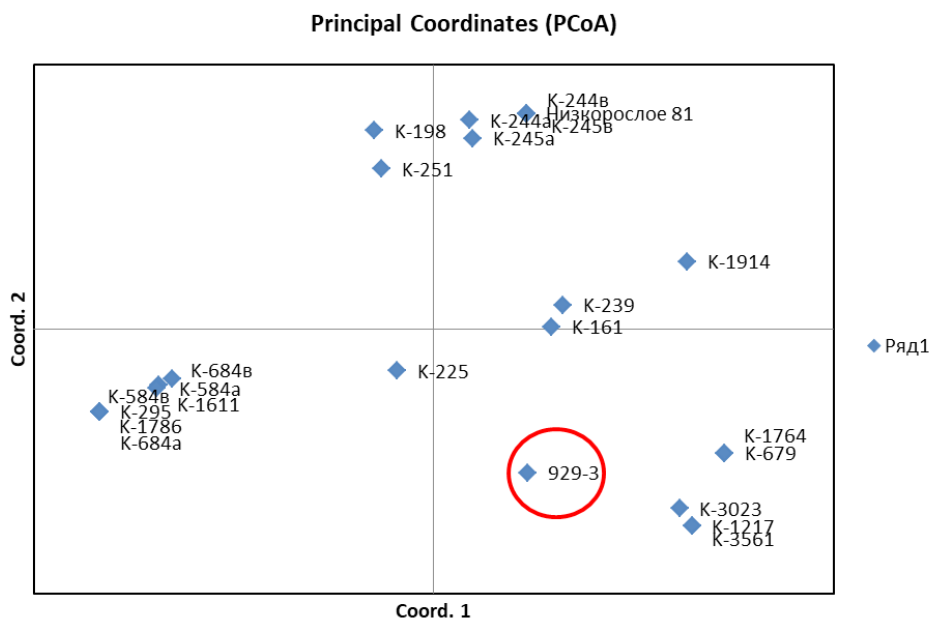


Рис. 5. Структура выборки образцов кафрского сорго, полученная методом анализа главных координат (PCoA) по результатам анализа ДНК маркеров β -, γ - и δ -кафиринов с помощью программы GenALEx 6.5 (красным цветом выделена линия хлебного сорго 929-3)

Fig. 5. Structure of the set of kaffir sorghum accessions obtained by the principal coordinates analysis (PCoA) method on the basis of the results of the DNA analysis of β -, γ - and δ -kafirin markers using the GenALEx 6.5 software (grain sorghum line 929-3 is highlighted in red)

Обсуждение

Все 16 изученных образцов кафрского сорго различались по окраске зерновки (белая, красная, розовая) и структуре эндосперма (стекловидный, частично стекловидный, мучнистый) (см. рис. 1). В то же время образцы оказались идентичными по электрофоретическим профилям запасных белков – кафиринов, что, вероятно, объясняется особенностями строения этих белков у сорго. Суммарный спектр кафиринов, выделенных из зрелых зерновок сорго, сложен по составу при разделении этих белков в ПААГ. Белки, предполагаемые белковые последовательности которых представлены в информационных базах PLAZA – Monocots PLAZA 4.5: Synteny plot (<https://www.ugent.be>) и NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>), различаются по длине, однако полиморфизм аллельных вариантов по числу аминокислотных остатков невелик, что, наряду с многокомпонентностью суммарных спектров, ограничивает возможности использования денатурирующего электрофореза в полиакриламидном геле (SDS-PAGE) для генотипирования. Этот тип электрофореза широко применяется для идентификации мутантных форм сорго, у которых происходят существенные перестройки этих генов, например значительные инсерции или даже образование преждевременных стоп-кодонов, что приводит к видимым изменениям спектра (Chamba et al., 2005; Laidlaw et al., 2010; Li et al., 2018). В ВИР для идентификации коллекционных образцов сорго была разработана другая методика электрофореза кафиринов в ацетатном буфере с pH 3.1 в ПААГ без добавления денатурирующего агента (SDS) (Khomutnikova, 1992). Метод позволяет дифференцировать белковые молекулы в зависимости от их длины, заряда и частично определяется вторичной структурой белка (Osterman, 1984). Однако в нашем исследовании этим методом удалось достоверно отличить только линию хлебного сорго 929-3, взятую в качестве контроля для образцов кафрского сорго (см. рис. 2). Ряд авторов для генотипирования использовали нуклеотидный полиморфизм кодирующих областей этих генов либо фланкирующих участков, содержащих высокополиморфные микросателлиты (Li et al., 2018; Laidlaw et al., 2010). Используемые в настоящей работе маркеры разработаны для картирования генов, кодирующих β -, γ - и δ -кафирины (Laidlaw et al., 2010), благодаря чему стало возможным дифференцировать почти все изученные образцы (см. табл. 3). При использовании двух SSR-маркеров, сцепленных с геном β -кафирина, выявлено 9 и 7 вариантов, для маркера γ -кафиринов – 4, а для STS-маркера δ -кафирина – 2, что сопоставимо с числом аллелей, найденных в кодирующих районах этих генов. Например, в выборке из 32 инбредных линий и трех диких видов сорго при секвенировании было обнаружено по 6 аллелей β - и γ -кафиринов, а также 3 аллеля δ -кафиринов, различающихся, как правило, единичными нуклеотидными заменами и, реже, инсерциями. Кроме того, у 18 линий сорго с помощью маркера δ -кафирина выявлен аллель гена этого белка со вставками, который кодирует полипептид с дополнительными молекулами метионина (Laidlaw et al., 2010). Такой аллель, вероятно, довольно широко распространен среди селекционных образцов, так как кодируемый белковый продукт содержит 19,1% этой незаменимой аминокислоты по сравнению с 15,9% продуктом аллеля без вставок. В нашем исследовании найдено 10 таких образцов: к-198, к-239, к-244, к-245, к-251, к-295, к-584, к-684, к-1611, к-1786.

Заключение

Образцы кафрского сорго различались по окраске зерна и структуре эндосперма и оказались идентичными по электрофоретическим профилям запасных белков кафиринов. В то же время образцы характеризовались высоким уровнем полиморфизма фрагментов, амплифицированных с праймерами, фланкирующими микросателлитные последовательности, сцепленные с генами β - и γ -кафиринов. Два варианта STS-маркера, отличавшихся по последовательности, обнаружены при амплификации с праймерами, специфичными для участка гена, кодирующего δ -кафирин. Более простые в исполнении (по сравнению с секвенированием) SSR- и STS-маркеры генов запасных белков являются эффективным инструментом для генотипирования, изучения внутривидового полиморфизма и поиска ценных для селекции генотипов среди коллекционных образцов сорго.

Reference / Литература

- 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
- Aniskina Yu.V., Malinovskaya E.V., Mitsurova V.S., Velishaeva N.S., Kolobova O.S., Shilov I.A. The study of the sorghum genetic diversity using the multiplex microsatellite analysis. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2019;2(3):20-29. [in Russian] (Анискина Ю.В., Малиновская Е.В., Мицурова В.С., Велишаева Н.С., Колобова О.С., Шилов И.А. Исследование генетического разнообразия сорго с использованием технологии мультиплексного микросателлитного анализа. *Биотехнология и селекция растений*. 2019;2(3):20-29). DOI: 10.30901/2658-6266-2019-3-01
- Antimonov A.K., Syrkina L.F., Antimonova O.N. Breeding of food grain sorghum. *Zemledelie = Crop Farming*. 2021;(8):28-32. [in Russian] (Антимонов А.К., Сыркина Л.Ф., Антимоннова О.Н. Селекция зернового сорго пищевого направления. *Земледелие*. 2021;(8):28-32). DOI: 10.24412/0044-3913-2021-8-28-32
- Belton P.S., Delgadillo I., Halford N.G., Shewry P.R. Kafirin structure and functionality. *Journal of Cereal Science*. 2006;44(3):272-286. DOI: 10.1016/j.jcs.2006.05.004
- Chamba E.B., Halford N.G., Forsyth J., Wilkinson M.D., Shewry P.R. Molecular cloning of β -kafirin, a methionine-rich protein of sorghum grain. *Journal of Cereal Science*. 2005;41(3):381-383. DOI: 10.1016/j.jcs.2004.09.004
- De Moraes Cardoso L., Pinheiro S.S., Martino H.S.D., Pinheiro-Sant'Ana H.M. Sorghum (*Sorghum bicolor* L.): Nutrients, bioactive compounds, and potential impact on human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2016;57(2):372-390. DOI: 10.1080/10408398.2014.887057
- Dorokhov D.B., Klocke E. A rapid and economic technique for RAPD analysis of plant genomes. *Russian Journal of Genetics*. 1997;33(4):358-365. [in Russian] (Дорохов Д.Б., Клоке Э. Быстрая и экономичная техноло-

- гия RAPD анализа растительных геномов. *Генетика*. 1997;33(4):443-450).
- El'konin L.A., Domanina I.V., Ital'yanskaya Yu.V. Genetic engineering as a tool for modification of seed storage proteins and improvement of nutritional value of cereal grain (review). *Agricultural Biology*. 2016;51(1):17-30. [in Russian] (Эльконин Л.А., Доманина И.В., Итальянская Ю.В. Генетическая инженерия как инструмент модификации состава запасных белков и повышения питательной ценности зерна у злаков (обзор). *Сельскохозяйственная биология*. 2016;51(1):17-30). DOI: 10.15389/agrobiology.2016.1.17rus
- Elkonin L.A., Panin V.M., Kenzhegulov O.A., Gerashchenkov G.A. Improvement of grain sorghum nutritive properties using modern genetic and biotechnological methods. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2019;2(3):41-48. [in Russian] (Эльконин Л.А., Панин В.М., Кенжегулов О.А., Герашенков Г.А. Улучшение питательных свойств зернового сорго на основе методов современной генетики и биотехнологии. *Биотехнология и селекция растений*. 2019;2(3):41-48). DOI: 10.30901/2658-6266-2019-3-06
- FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Statistics: [website]. Available from: <https://www.fao.org/statistics/en> [accessed Aug. 01, 2024].
- Holding D.R. Recent advances in the study of prolamin storage protein organization and function. *Frontiers in Plant Science*. 2014;5:276-284. DOI: 10.3389/fpls.2014.00276
- Ivanyukovich L.K., Doronina Yu.A. Review of the classification of sorghum – *Sorghum* Moench. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 1980;69(1):18-27. [in Russian] (Иванюкович Л.К., Доронина Ю.А. Обзор классификаций сорго *Sorghum* Moench. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 1980;69(1):18-27).
- Jakushevsky E.S. Varietal composition of sorghum and its use in breeding. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 1969;41(2):148-178. [in Russian] (Якушевский Е.С. Видовой состав сорго и его селекционное использование. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 1969;41(2):148-178).
- Khomutnikova L.A. Study of grain sorghum polymorphism by electrophoretic banding patterns of storage proteins (Issledovaniye polimorfizma zernovogo sorgo po elektroforeticheskim spektram zapasnykh belkov). *Scientific and Technical Bulletin of the N.I. Vavilov All-Union Research Institute of Plant Industry*. 1992;223:37-38. [in Russian] (Хомутникова Л.А. Исследование полиморфизма зернового сорго по электрофоретическим спектрам запасных белков. *Научно-технический бюллетень Всесоюзного научно-исследовательского института растениеводства им. Н.И. Вавилова*. 1992;223:37-38).
- Konarev V.G. (ed.). Identification of varieties and registration of crop genetic diversity according to seed proteins (Identifikatsiya sortov i registratsiya genofonda kulturnykh rasteniy po belkam semyan). St. Petersburg: VIR; 2000. [in Russian] (Идентификация сортов и регистрация генофонда культурных растений по белкам семян / под ред. В.Г. Конарева. Санкт-Петербург: ВИР; 2000).
- Kurbonov M., Khaitov R. Sorghum as a substitute for corn in poultry feed. *E3S Web of Conferences*. 2023;390:02025. DOI: 10.1051/e3sconf/202339002025
- Laidlaw H.K.C., Mace E.S., Williams S.B., Sakrewski K., Mudge A.M., Prentis P.J. et al. Allelic variation of the β -, γ - and δ -kafirin genes in diverse *Sorghum* genotypes. *Theoretical and Applied Genetics*. 2010;121(7):1227-1237. DOI: 10.1007/s00122-010-1383-9
- Li A., Jia S., Yobi A., Ge Z., Sato S.J., Zhang C. et al. Editing of an alpha-kafirin gene family increases digestibility and protein quality in sorghum. *Plant Physiology*. 2018;177(4):1425-1438. DOI: 10.1104/pp.18.00200
- Mawouma S., Condurache N.N., Turturică M., Constantin O.E., Croitoru C., Rapeanu G. Chemical composition and antioxidant profile of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) and pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) grains cultivated in the Far-North region of Cameroon. *Foods*. 2022;11(14):2026. DOI: 10.3390/foods11142026
- NCBI. National Center for Biotechnology Information: [website]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov> [accessed Aug. 08, 2024].
- Osborne T.B. The vegetable proteins. London: Longmans, Green & Co; 1919. DOI: <https://doi.org/10.5962/bhl.title.18912>
- Osterman L.A. Methods of protein and nucleic acid research. Vol. 3. Electrophoresis – Isoelectric Focusing Ultracentrifugation. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag; 1984.
- Peakall R., 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
- Price A.L., Patterson N.J., Plenge R.M., Weinblatt M.E., Shadick N.A., Reich D. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nature Genetics*. 2006;38(8):904-909. DOI: 10.1038/ng1847
- Reddy B.V.S., Ramesh S., Reddy P.S., Ramaiah B. Combining ability and heterosis as influenced by male-sterility inducing cytoplasm in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Euphytica*. 2007;154(1-2):153-164.
- Righetti P.G., Chillemi F. Isoelectric focusing of peptides. *Journal of Chromatography A*. 1978;157:243-251. DOI: 10.1016/S0021-9673(00)92339-2
- Shewry P.R., Halford N.G. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany*. 2002;53(370):947-958. DOI: 10.1093/jexbot/53.370.947
- Shull J.M., Watterson J.J., Kirleis A.W. Proposed nomenclature for the alcohol-soluble proteins (kafirins) of *Sorghum bicolor* (L.) Moench based on molecular weight, solubility, and structure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1991;39(1):83-87. DOI: 10.1021/jf00001a015
- Snowden J.D. A classification of the cultivated sorghums. *Bulletin of Miscellaneous Information (Royal Botanic Gardens, Kew)*. 1935;5(1935):221-255. DOI: 10.2307/4107126
- Universiteit Gent: [website]. Available from: ugent.be [accessed Aug. 08, 2024].
- Wong J.H., Lau T., Cai N., Singh J., Pedersen J.F., Vensel W.H. et al. Digestibility of protein and starch from sorghum (*Sorghum bicolor*) is linked to biochemical and structural features of grain endosperm. *Journal of Cereal Science*. 2009;49(1):73-82. DOI: 10.1016/j.jcs.2008.07.013
- Wu Y.R., Messing J. RNA interference-mediated change in protein body morphology and seed opacity through loss of different zein proteins. *Plant Physiology*. 2010;153(1):337-347. DOI: 10.1104/pp.110.154690
- Xu J.H., Messing J. Organization of the prolamin gene family provides insight into the evolution of the maize genome and gene duplications in grass species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008;105(38):14330-14335. DOI: 10.1073/pnas.0807026105

Информация об авторах

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

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

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

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

Ренат Абдуллаевич Абдуллаев, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, abdullaev.1988@list.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1021-7951>

Ольга Ивановна Романова, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, o.romanova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3509-4655>

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

Information about the authors

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

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

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

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

Renat A. Abdullaev, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, abdullaev.1988@list.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1021-7951>

Olga I. Romanova, Cand. Sci. (Agriculture), Leading Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, o.romanova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3509-4655>

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

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 22.08.2024; одобрена после рецензирования 16.09.2024; принята к публикации 03.12.2024.
The article was submitted on 22.08.2024; approved after reviewing on 16.09.2024; accepted for publication on 03.12.2024.