ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ВСЕРОССИЙСКИЙ ИНСТИТУТ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ
РАСТЕНИЙ ИМЕНИ Н.И. ВАВИЛОВА (ВИР)

ТРУДЫ ПО ПРИКЛАДНОЙ БОТАНИКЕ, ГЕНЕТИКЕ И СЕЛЕКЦИИ, том 181

выпуск 3

(основаны Р. Э. Регелем в 1908 г.)

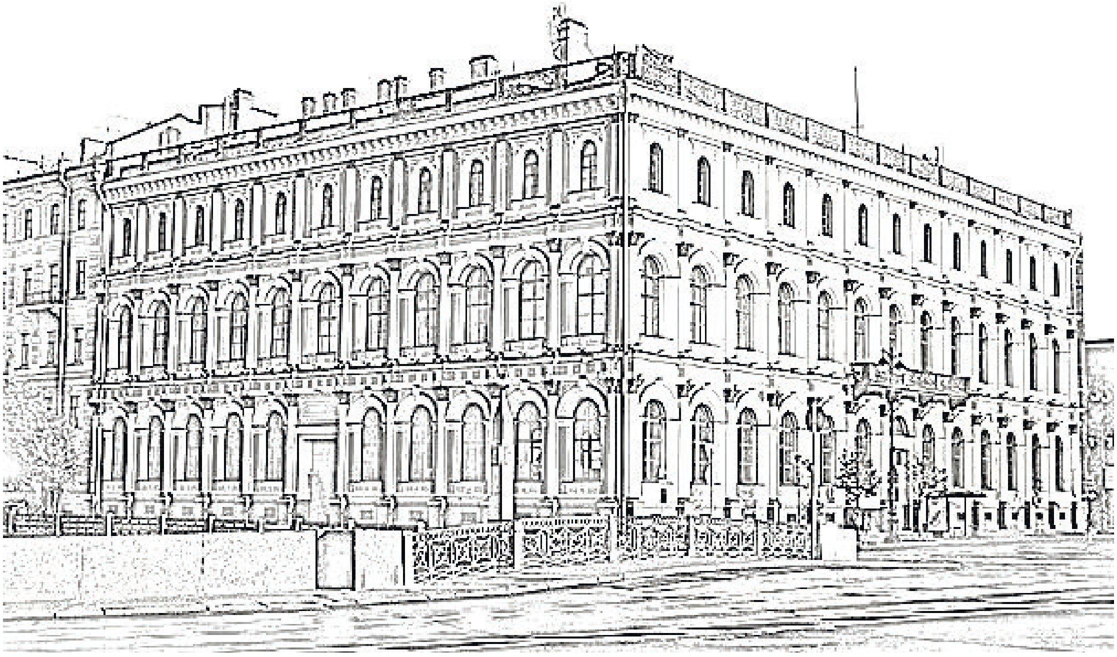
САНКТ-ПЕТЕРБУРГ
2020

PROCEEDINGS ON APPLIED BOTANY, GENETICS AND BREEDING, vol. 181

issue 3

(founded by Robert Regel in 1908)

ST. PETERSBURG
2020



Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation
Federal Research Center
The N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR)

PROCEEDINGS ON APPLIED BOTANY, GENETICS AND BREEDING

volume 181
issue 3

Editor in charge of this issue: *E. K. Khlestkina, E. A. Sokolova*
translator: *A. G. Krylov*

ST. PETERSBURG

2020

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений
имени Н.И. Вавилова (ВИР)

ТРУДЫ ПО ПРИКЛАДНОЙ БОТАНИКЕ, ГЕНЕТИКЕ И СЕЛЕКЦИИ

том 181
выпуск 3

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ

2020

УДК 58:575:631.522/.524:633/635:632(066)

ТРУДЫ ПО ПРИКЛАДНОЙ БОТАНИКЕ, ГЕНЕТИКЕ И СЕЛЕКЦИИ. Т. 181, вып. 3. СПб., 2020. 204 с.

С целью мобилизации **генетических ресурсов растений в 2019 г**. обследована территория Кабардино-Балкарской Республики. Проанализирован уровень мобилизации *Medicago falcata* s.l в коллекцию ВИР. Дана характеристика сезонной динамики активности ингибиторов трипсина у двух видов рода *Hedysarum* (Fabaceae) в условиях юга Сибири. В условиях Волго-Вятского региона РФ исследована сопряженность морфологических признаков ярового ячменя с устойчивостью к полеганию. Рассмотрены элементы продуктивности коллекционного материала тритикале в условиях Среднего Приамурья. Выделен исходный материал голозерного ячменя для селекции сортов, адаптированных к агроклиматическим условиям Тюменской области. Проведена сравнительная оценка показателей пластичности, стабильности и гомеостатичности сортов озимой ржи селекции ВИР по признаку «масса 1000 зерен». Обсуждаются перспективы селекционного использования яблони Недзвецкого (*Malus niedzwetzkyana* Dieck). Дана оценка генетического разнообразия сортов и линий гороха с помощью SSR-анализа; эффективности SSR- и PawS-маркеров для выявления генетического полиморфизма сортов клевера лугового (*Trifolium pratense* L.). Представлена молекулярно-генетическая характеристика образцов брокколи (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck) коллекции ВИР. Изучено генетическое разнообразие мировой коллекции сои с использованием микросателлитных маркеров, связанных с устойчивостью к грибным болезням. Разными способами сделан сравнительный анализ ДНК из листьев чабреца. Рассмотрены жизнеспособность пыльцы черной смородины до и после криоконсервирования в жидком азоте и особенности ее морфологии. Проанализирован род *Camelina* Crantz Монголии и Китая по материалам гербариев Института общей и экспериментальной биологии АНМ (UBA) и Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (LE). Выделены источники устойчивости к серой гнили ягод земляники для условий Среднего Урала; к фитофторозу и ризоктониозу среди межвидовых гибридов картофеля; доноры эффективных генов устойчивости ячменя к ринхоспориозу. Определена устойчивость допущенных к использованию в России сортов ячменя к вредным организмам и токсичным ионам алюминия; устойчивость к мучнистой росе скандинавских образцов яровой мягкой пшеницы из коллекции ВИР; эффективная устойчивость образцов рода *Aegilops* L. к мучнистой росе. Приведены обзоры: системы ЦМС у рапса и их использование в селекции отечественных гибридов; генетическое разнообразие коллекции бобов (*Vicia faba*) ВИР и его использование в селекции; состав коллекции примитивных культурных видов секции *Petota* Dumort. рода *Solanum* L. и актуальные направления их исследования.

Табл. 61, рис. 49, библиогр. 563 назв.

Для ресурсоведов, ботаников, генетиков, селекционеров, преподавателей вузов биологического и сельскохозяйственного профиля.

PROCEEDINGS ON APPLIED BOTANY, GENETICS AND BREEDING. Vol. 181, iss. 3. SPb., 2020. 204 p.

The territory of the Kabardino-Balkarian Republic was explored in 2019 with the purpose of plant genetic resources mobilization. *Medicago falcata* s.l. alfalfas have been analyzed for the fullness of their coverage in the VIR collection. Seasonal dynamics of trypsin inhibitor activity is described for two species of the genus *Hedysarum* (Fabaceae) in Southern Siberia. Association of morphological traits with lodging resistance has been studied for spring barley in the Volga-Vyatka region. Yield components of the triticale collection material have been tested in the environments of the Middle Amur region. Sources of useful traits have been identified in hulless barley for breeding cultivars adapted to the climate of Tyumen Province. Comparative assessment of plasticity, stability and homeostasis based on '1000 grain weight' has been made for winter rye cultivars developed at VIR. The prospects of including Niedzwetzky's apple (*Malus niedzwetzkyana* Dieck) in breeding programs are discussed. Genetic diversity has been assessed in pea cultivars and lines using the SSR analysis, and the efficiency of SSR and PawS markers for evaluation of genetic polymorphism among red clover (*Trifolium pratense* L.) cultivars is analyzed. Molecular genetic characteristics are presented for broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck) from the VIR collection. The genetic diversity in the world soybean collection has been studied using microsatellite markers associated with fungal disease resistance. Comparative analysis of the DNA isolated from thyme leaves has been conducted using different methods. Viability of black currant pollen has been measured before and after cryopreservation in liquid nitrogen, and its morphological features are discussed. The genus *Camelina* Crantz in Mongolia and China is reviewed on the basis of herbarium materials from the Institute of General and Experimental Biology of the ASM (UBA) and the Komarov Botanical Institute (LE). Sources and donors of resistance have been identified for gray mold rot in strawberries in the environments of the Middle Urals, late blight and black scurf in interspecific potato hybrids, and scald in barley. Resistance of barley cultivars approved for use in Russia to harmful organisms and toxic aluminum ions, powdery mildew resistance of Nordic spring bread wheat accessions from the VIR collection, and effective resistance to powdery mildew in *Aegilops* L. accessions have been assessed. The reviews are presented on the CMS systems in rapeseed and their use in domestic hybrid breeding; genetic diversity of broad beans (*Vicia faba*) in the VIR collection and its use in breeding; composition of the collection of primitive cultivated species within the *Solanum* L. section *Petota* Dumort. and contemporary trends in their research.

Tabl. 61, fig. 49, ref. 563.

Addressed to genetic resources experts, geneticists, plant breeders and lecturers of biological and agricultural universities and colleges.

N 2227-8834
ПИ № ФС77-57455

CONTENTS

MOBILIZATION AND CONSERVATION OF THE GENETIC DIVERSITY OF CULTIVATED PLANTS AND THEIR WILD RELATIVES

STUDYING AND UTILIZATION OF PLANT GENETIC RESOURCES

COLLECTIONS OF THE WORLD'S CROP GENETIC RESOURCES FOR THE DEVELOPMENT OF PRIORITY PLANT BREEDING TRENDS

GENETICS OF CULTIVATED PLANTS AND THEIR WILD RELATIVES

IDENTIFICATION OF THE DIVERSITY OF CULTIVATED PLANTS AND THEIR WILD RELATIVES FOR SOLVING FUNDAMENTAL AND APPLIED PROBLEMS

SYSTEMATICS, PHYLOGENY AND GEOGRAPHY OF CULTIVATED PLANTS AND THEIR WILD RELATIVES

IMMUNITY OF CULTIVATED PLANTS AND THEIR WILD RELATIVES

BRIEF REPORTS

SURVEYS

СОДЕРЖАНИЕ

ИММУНИТЕТ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ И ИХ ДИКИХ РОДИЧЕЙ

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

ОБЗОРЫ

Мобилизация генетических ресурсов растений с территории Кабардино-Балкарской Республики

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-9-16
УДК 581.9:631.526:582.5/9
Поступление/Received: 14.05.2020
Принято/Accepted: 21.09.2020

Mobilization of plant genetic resources from the territory of the Kabardino-Balkarian Republic

А. Б. КУРИНА [1]*, Л. М. КАЛАШНИКОВА [2], А. Ю. ПАРИТОВ [2], Г. Х. КИРЖИНОВ [2], А. М. АРТЕМЬЕВА [1]

[1] *Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44*
* *nastya_n11@mail.ru*

[2] *Кабардино-Балкарский государственный университет имени Х.М. Бербекова, 360004 Россия, Кабардино-Балкарская республика, г. Нальчик, ул. Чернышевского, 173*

A. B. KURINA [1]*, L. M. KALASHNIKOVA [2], A. YU. PARITOV [2], G. KH. KIRZHINOV [2], A. M. ARTEMYEVA [1]

[1] *N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia*
* *nastya_n11@mail.ru*

[2] *Kh.M. Berbekov Kabardino-Balkarian State University, 173 Chernyshevskogo St., Nalchik, Kabardino-Balkarian Republic 360004, Russia*

Актуальность. Кабардино-Балкарская Республика представляет собой одну из уникальных во флористическом отношении территорий РФ. Растительность республики, особенно в горной и предгорной зоне, очень богата, чему способствует чрезвычайно сложный и разнообразный рельеф. На ее территории можно встретить более 50% всех представителей флоры, которые есть на Кавказе; ей присущи все основные группы формаций растительного мира, кроме субтропических и тропических. Представляется актуальным поиск и сбор диких родичей культурных растений, а также образцов овощных и бахчевых культур, длительное время возделываемых на обследованной территории и приспособленных к местным условиям, с целью пополнения коллекции генетических ресурсов овощных и бахчевых культур ВИР. **Методы.** Маршрут экспедиции включал обследование предгорных и горных районов Кабардино-Балкарской Республики, изучение ассортимента фермерских хозяйств, рынков и сельскохозяйственных магазинов г. Нальчик и г. Прохладный. Обследования территорий осуществлялись одно- и двухдневными маршрутами из Нальчика с 18 по 26 августа 2019 г. Протяженность маршрута составила около 600 км. **Результаты.** В результате экспедиции обследованы фермерские и личные подсобные хозяйства населения, а также естественные природные сообщества горных районов республики, собрано 256 местных и селекционных сортов овощных и бахчевых культур и 69 семенных и вегетирующих образцов дикорастущих родичей культурных овощных растений, а также некоторых кормовых. Определены российские и зарубежные селекционные фирмы, сорта которых распространены на территории Кабардино-Балкарской Республики.

Ключевые слова: экспедиция, дикорастущие родичи культурных растений, местные сорта.

Background. The Kabardino-Balkarian Republic is one of the floristically unique territories in the Russian Federation. Its vegetation, especially in the mountainous and foothill areas, is very rich due to, *inter alia*, the extremely complex and diverse relief. Over 50% of the entire Caucasian flora is present in the republic, representing all main groups of plant formations, except subtropical and tropical ones. It seems relevant to search for and collect crop wild relatives as well as landraces of vegetables and cucurbits cultivated for a long time in the surveyed territory and adapted to local environmental conditions in order to add new genetic resources of these crops to the VIR collection. **Methods.** The expedition route included explorations of the foothill and highland areas of Kabardino-Balkaria, and familiarization with the seed assortment available at the markets and agricultural stores in Nalchik and Prokhladny. The target areas were surveyed from August 18 through 26, 2019, by one- or two-day trips starting from Nalchik. The length of the itinerary was about 600 km. **Results.** The collecting mission examined local farms and homesteads, explored the mountains, and collected 256 local and commercial cultivars of vegetable and cucurbit crops, 69 seed and vegetative samples of vegetable crop wild relatives, plus a number of fodder plant samples. Russian and foreign breeding companies whose cultivars are popular in Kabardino-Balkaria were identified.

Key words: collecting mission, crop wild relatives, landraces.

Введение

Кабардино-Балкарская Республика (КБР) расположена в центральной части северного макросклона Кавказа. Территория Республики представлена тремя основными геоморфологическими зонами – горной, предгорной и равнинной. Горная и предгорная зоны занимают большую часть территории, равнинная зона охватывает северо-восточную часть республики (Guryanov, 1964).

Через территорию республики параллельно друг другу протягиваются пять основных хребтов Большого Кавказа: Пастбищный, Лесистый, Скалистый, Боковой и Главный. Почвенный покров характеризуется большой пестротой и разнообразием: в равнинной зоне распространены черноземы и темно-каштановые почвы, на склонах гор – горно-луговые, что связано с вертикальной поясностью гор (Kosikov, Kosikova, 2001; Report…, 2015).

Территория Кабардино-Балкарии характеризуется большим разнообразием климата, который зависит от географического расположения, рельефа местности, влияния гор, направления господствующих ветров. В республике вертикальный тип поясности: на равнине и в предгорьях распространен влажный континентальный климат, в горах – климат субальпийского пояса, который далее в высокогорьях переходит в альпийский тип (Portenier, 2012).

Богатство и разнообразие растительного покрова Кабардино-Балкарии определяется многообразием климатических условий и особенностями горного рельефа территории, который расположен в пределах эльбрусского (северо-западная часть) и терского (юго-восточная часть) вариантов поясности северного макросклона Центрального Кавказа (Shhagapsoev et al., 2018). Поясной спектр эльбрусского варианта состоит из луговых степей, остепненных лугов, субальпийского, альпийского, субнивального и нивального поясов. Терский вариант отличается наличием пояса широколиственных лесов. Степная растительность представлена равнинными, предгорными и горными степями. Лесная растительность состоит в основном из дубовых, буковых, грабовых, сосновых, березовых лесов, а также осинников и ольшаников. Луговая растительность включает альпийские, субальпийские, послелесные и приречные луга (Report…, 2015; Shhagapsoev, 2015). С севера на юг прослеживается смена высотных растительных зон от южных степей в равнинной части до высокогорных тундр и вечных снегов Главного и Бокового хребтов Большого Кавказа (Akinfiev, 1894; Shhagapsoev, Volkovich, 2002; Bulokhov, 2003; Shhagapsoev, 2015). Изрезанность рельефа и связанная с этим экспозиционная мозаика склонов, котловин, депрессий, возвышенностей и гребней гор увеличивает различия условий произрастания видов и формирования биоценозов (Portenier, 2000).

В Кабардино-Балкарии развито главным образом производство зерна и овощеводство. В республике выращивают яровую и озимую пшеницу, яровой ячмень, овес, кукурузу на зерно и корм, просо, гречиху, горох, подсолнечник, коноплю, сахарную свеклу, озимый рапс, сою, кенаф, картофель; овощные: томат, капусту, огурцы, перец, кабачки, лук, столовую свеклу, кориандр, бахчевые; плодовые: яблони, груши, абрикосы, сливы, вишни, персики, алычу, черешню; землянику, виноград, грецкий орех; кормовые: люцерну, суданскую траву (Mirzoeva et al., 2014; Gashtova et al., 2019). Среди промышленных садов распространены главным образом яблоневые пальметтные.

Начиная с 1931 г. состоялось 11 экспедиций ВИР по Северному Кавказу, включающих коллекционные сборы в Кабардино-Балкарской Республике, в том числе: гербария – 1 (1931 г.), кукурузы – 2 (1933, 2018 г.), кормовых культур – 2 (1960, 2010 г.), зерновых – 1 (1963 г.), плодовых – 1 (1981 г.), нескольких групп культур – 4 (1978, 1988, 2000, 2014 г.). Экспедиция только по территории КБР была организована в 2018 г., в результате которой коллекция ВИР пополнилась образцами кукурузы и зернобобовых культур. Ряд овощных культур был собран экспедициями 1988 и 2000 г.

Недостаточная изученность разнообразия генетических ресурсов овощных и бахчевых культур и их диких родичей в Кабардино-Балкарской Республике, а также слабая представленность образцов семян из этого региона в коллекции ВИР вызвали необходимость проведения экспедиционных обследований.

Поэтому в 2019 г. была проведена специализированная *экспедиция с целью мобилизации* генетических ресурсов местных овощных и бахчевых культур и их диких родичей с территории Кабардино-Балкарской Республики в коллекцию ВИР. В задачи входило обследование сельскохозяйственных угодий и естественных сообществ в предгорных и горных районах КБР для сбора семян овощных и бахчевых культур и их диких родичей, а также изучение ассортимента и сортимента фермерских полей, рынков и сельскохозяйственных магазинов.

Методика обследования

Экспедиция по Кабардино-Балкарской Республике, организованная в рамках научно-технического сотрудничества между ВИР (Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова) и Кабардино-Балкарским государственным университетом имени Х.М. Бербекова, проходила с 18 по 26 августа 2019 г. Продолжительность экспедиции составила 7 полевых дней, общий маршрут – около 600 км.

Маршрут экспедиции включал обследование предгорных и горных административных районов КБР – Черекского, Чегемского и Эльбрусского – и изучение ассортимента рынков и сельскохозяйственных магазинов г. Нальчик и г. Прохладный (рис. 1). Высота обследованных мест над уровнем моря варьировала от 213 (г. Прохладный) до 3100 м (район Приэльбрусья).

Обследования намеченных территорий осуществлялись одно- и двухдневными маршрутами из Нальчика в различных направлениях (см. рис. 1). Сбор семян овощных и бахчевых культур проходил в местах их культивирования, хранения и продажи. Семена приобретались на рынках, у фермеров и в специализированных магазинах. Во время экспедиции были обследованы фитоценозы лесной зоны, долин рек, карьеров, лугов и окрестностей населенных пунктов, собраны дикорастущие родичи культурных растений.

Географическое и экологическое разнообразие мест сбора предполагало генетическое разнообразие собранного материала, что, несомненно, важно для пополнения коллекции ВИР.

Результаты

В результате экспедиции обследовано 25 мест, собраны семена и живые растения (всего 325 образцов).

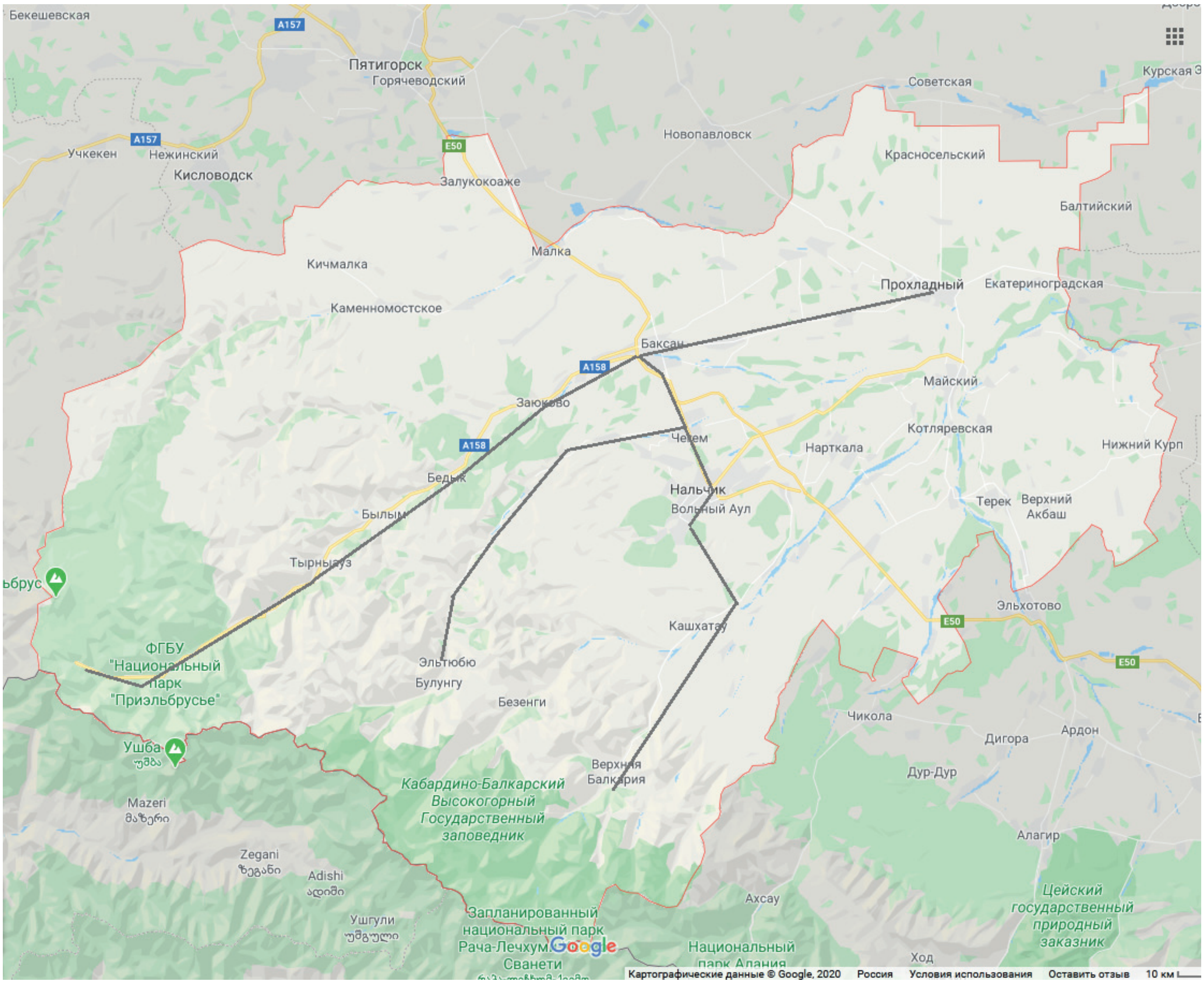


Рис. 1. Маршрут экспедиции по Кабардино-Балкарской Республике в 2019 г.

Fig. 1. The route of the collecting mission across the Kabardino-Balkarian Republic in 2019

Выявлено, что сортимент овощных и бахчевых культур на рынках представлен в основном сортами российских фирм «Гавриш», «Седек», «Аэлита», «Поиск», «Сибирский сад», а также сортами и гибридами зарубежной селекции. Выращиваются местные сорта отдельных традиционных культур: плетистая тыква, твердокорая, мускатная и крупноплодная, кабачок, томат, лук, чеснок, укроп, тмин, кориандр и другие пряновкусовые.

На рынке г. Нальчик было приобретено 145 селекционных образцов овощных и бахчевых культур, рекомендованных для южной зоны России, которые отсутствуют в продаже в северных регионах, а также местные образцы чабера и фенхеля (из села Урвань), тыквы (сорт ‘Кабардинская’), чеснока (из села Аушигер) и фасоли (из Баксанского района). Отмечено большое разнообразие местных сортов фасоли по окраске и форме семян: белые крупные плоские, белые круглые, белокоричневые, бежевые с полосами, фиолетовые и темнофиолетовые с белыми полосами, коричневые пестрые.

На рынке г. Прохладный (степная зона, главная зона овощеводства республики) представлен очень разнообразный и интересный ассортимент овощных культур российской селекции и многочисленных зарубежных селекционно-семеноводческих фирм: Seminis, Bejo, Rijk Zwaan, Enza Zaden (Нидерланды), Hazera (Limagrain) и Clause (Франция), Cora (Италия), Takii, Sakata, Kitano Seeds (Япония), южнокорейских и китайских. В результате там было приобретено 83 образца (табл. 1). Особый интерес представляют образцы турецкой селекции фирмы Bursa, так как вывоз семян из Турции затруднен или практически невозможен.

В частных хозяйствах у местных жителей в селе Хуштосырт были приобретены семена местных сортов укропа, тмина, тыквы, плоды сливы и алычи красной, собраны ягоды физалиса декоративного с синими цветками; в поселке Эльбрус приобретены косточки абрикоса, местные семена фасоли, укропа, кориандра, тыквы, бобов и подсолнечника.

Сотрудниками Государственного университета Кабардино-Балкарии были любезно предоставлены семена томатов с различной формой и окраской плода, кресс-салата, салата листового, выращиваемых на личных участках возле Нальчика; семена тыквы и лука репчатого из села Каменномостское Зольского района; семена тимьяна, лука дикого и репчатого из села Шалушка Чегемского района.

Зарубежные селекционеры часто отдают семена овощных культур местным фермерам под урожай, успешно пропагандируя свои достижения. Так, район Былыма в Верхней Балкарии – основной регион возделывания капусты в республике – занят преимущественно гибридами фирмы Kitano Seeds. Агротехника

Таблица 1. Овощные и бахчевые культуры, приобретенные на рынках городов Нальчик и Прохладный в экспедиции по Кабардино-Балкарской Республике в 2019 г.

Table 1. Crop samples of vegetables and cucurbits acquired at the markets of Nalchik and Prokhladny by the collecting mission to Kabardino-Balkaria in 2019

№	Культура	Количество образцов	№	Культура	Количество образцов
1	Амарант	1	31	Огурец	19
2	Анис	3	32	Пажитник	1
3	Арбуз	1	33	Пастернак	2
4	Артишок	1	34	Патиссон	1
5	Бадьян	1	35	Пепино	1
6	Базилик	4	36	Перец	18
7	Баклажан	2	37	Петрушка	2
8	Брокколи	1	38	Портулак	1
9	Брюква	1	39	Редис	5
10	Горчица белая	1	40	Редька	15
11	Дыня	2	41	Репа	2
12	Кабачок	3	42	Розмарин	4
13	Капуста декоративная	4	43	Руккола	1
14	Капуста пекинская	4	44	Рута	1
15	Капуста цветная	2	45	Салат	1
16	Капуста белокочанная	1	46	Свекла	1
17	Капуста брюссельская	2	47	Сельдерей	1
18	Кардамон	1	48	Спаржа	1
19	Катран	2	49	Стевия	1
20	Кориандр	2	50	Тимьян	3
21	Кресс-салат	3	51	Тмин	3
22	Лаванда	2	52	Томат	51
23	Лук	3	53	Тыква	14
24	Люффа	1	54	Укроп	5
25	Люцерна	1	55	Фасоль	6
26	Монарда	2	56	Фенхель	2
27	Мангольд	2	57	Физалис	1
28	Мелотрия	1	58	Чабер	2
29	Морковь	2	59	Чеснок	1
30	Нигелла	1	60	Щавель	5
Всего:					**228**

возделывания овощных культур общепринятая для южной зоны, с регулярным использованием пестицидов. По маршруту экспедиции на выращиваемых растениях мы наблюдали основные болезни капустных культур – сосудистый бактериоз, луковых – мучнистую росу. В посевах нами был выявлен основной многоядный вредитель овощных и масличных культур – капустная совка.

Сбор дикорастущих родичей и лекарственных растений проходил в основном в пределах субальпийского пояса на высоте 2000–2300 м н. у. м. (национальный парк «Приэльбрусье»), а также в среднегорном лесном поясе на высоте 1200–1600 м н. у. м.

Во время экспедиции на территории КБР были обследованы субальпийские луга, в составе которых выделяются три класса формаций: 1) мезофитные субальпийские луга; 2) болотистые субальпийские луга; 3) остепненные субальпийские луга (Shhagapsoev, Volkovich, 2002; Shhagapsoev et al., 2015). Наибольшее распространение имеют мезофитные среднетравные субальпийские луга, играющие роль резерватов генофонда горной флоры. По эколого-флористической классификации растительные сообщества этих лугов объединены в два синтаксона – субассоциацию ***Betoninici macranthae-Calamagrostietum arundinaceae Bistortetosum carnea*** и ассоциацию ***Ranunculo grandiflori-Hordeetum violaceae*** (Tsepkova, 2016).

Собщества субассоциации характерны преимущественно для национального парка «Приэльбрусье» и встречаются по склонам западной и юго-западной экспозиций средней крутизны на высоте свыше 2000 м н. у. м. Доминантом является вейник тростниковидный (*Calamagrostis arundinacea* (L.) Roth). Кроме того, преобладают разнотравные растения: буквица крупноцветковая (*Betonica macrantha* K. Koch), василек желтофиолетовый (*Cyanus cheiranthifolius* (Willd.) Sojak), горец мясокрасный (*Bistorta officinalis* Delarbre), змееголовник Руйша (*Dracocephalum ruyschiana* L.), герань лесная (*Geranium sylvaticum* L.), мытник сжатый (*Pedicularis condensata* Bieb.), горечавка семираздельная (*Gentiana septemfida* Pall.), первоцвет крупночашечковый (*Primula macrocalyx* Bunge), колокольчик холмовой (*Campanula collina* Bieb.), душица обыкновенная (*Origanum vulgare* L.), головчатка гигантская (*Cephalaria gigantea* (Ledeb.) Bobr.), скабиоза кавказская (*Scabiosa caucasica* Bieb.) и другие. Среди бобовых встречается клевер седоватый (*Trifolium canescens* Willd.), клевер луговой (*T. pratense* L.), вика тонколистная (Vicia tenuifolia Roth), чина луговая (*Lathyrus pratensis* L.). Из злаков кроме вейника встречаются костер пестрый (*Bromopsis variegata* (Bieb.) Holub), овсяница пестрая (*Festuca varia* Haenke), мятлик боровой (*Poa nemoralis* L.), душистый колосок альпийский (*Anthoxanthum alpinum* A. et D. Love), овсец аджарский (*Helictotrichon adzharicum* (Albov) Grossh.) и некоторые другие. Разнотравно-вейниковые луга традиционно используются населением Приэльбрусья для заготовки сена (в последние годы значительно реже). Отсутствие рудеральных видов в травостое и снижение антропогенной нагрузки позволяет считать их примером ненарушенных субальпийских лугов.

Сообщества ассоциации ***Ranunculo grandiflori-Hordeetum violaceae*** распространены в ущельях Кабардино-Балкарского высокогорного заповедника на платообразных участках горных склонов, на надпойменных террасах рек, по берегам небольших ручьев и временных водотоков. В травостое доминируют ячмень фиолетовый (*Hordeum violaceum* Boiss. et Huet) и лютик крупноцветковый (*Ranunculus grandiflorus* L.), определяющие аспект ассоциации. Часто встречаются тмин обыкновенный (*Carum carvi* L.), овсяница луговая (*Festuca pratensis* Huds.), тимофеевка луговая (*Phleum pratense* L.). Характерной особенностью сообществ является участие в их сложении рудеральных видов растений – мятлика однолетнего (*Poa annua* L.), подорожника большого (*Plantago major* L.), одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.), ромашки пахучей (*Lepidotheca suaveolens* (Pursh) Nutt.), щавеля конского (*Rumex confertus* Willd.), лопуха большого (*Arctium lappa* L.), полыни обыкновенной (*Artemisia vulgaris* L.) и других. Объясняется это тем, что в прошлом ущелья служили местом выпаса мелкого и крупного рогатого скота. После создания высокогорного заповедника выпас скота сократился, а на территориях ущелий остались заброшенные кошары и участки пастбищ с рудеральными видами, устойчивыми к пастбищному воздействию. Таким образом, рассматриваемая ассоциация представляет собой нарушенный пастбищным воздействием вариант мезофильных лугов Кабардино-Балкарии.

В нижней части субальпийского пояса распространены из злаковых: ежа сборная (*Dactylis glomerata* L.), овсяница гигантская (*Festuca gigantea* (L.) Vill.), полевица гигантская (*Agrostis gigantean* Roth), мятлик длиннолистный (*Poa longifolia* Trin.); из двудольных характерны: борщевик Мантенгацци (*Heracleum mantegazzianum* Somm. et Levier), девясил высокий (*Inula helenium* L.), аконит восточный (*Aconitum orientale* Mill.) и аконит носатый (*A. nasutum* Fisch. ex Reichenb.), буквица крупноцветная (*B. macrantha* C. Koch), головчатка балкарская (*Cephalaria balkharica* E. Busch) и головчатка гигантская (*C. gigantean* (Ledeb.) Bobr.), колокольчик широколистный (*Campanula latifolia* L.), живокость извилистая (*Delphinium flexuosum* Bieb.), лилия однобратственная (*Lilium monadelphum* Bieb.), лигустикум крылатый (*Ligusticum alatum* (Bieb.) Spreng.), телекия видная (*Telekia speciose* (Schreb.) Baumg.).

Большую роль в разнообразии среднегорной лесной растительности играют дикие плодовые деревья и кустарники. На склонах гор часто встречаются облепиха крушиновидная (*Hippophae rhamnoides* L.), виды боярышника (*Crataegus* L.), бузина черная (*Sambucus nigra* L.), свидина южная (*Swida australis* (C.A. Mey.) Pojark. ex Grossh.), лещина обыкновенная (*Corylus avellana* L.), калина обыкновенная (*Viburnum opulus* L.), алыча (*Prunus cerasifera* Erch.), шиповник собачий (*Rosa canina* L.), шиповник Проханова (*R. prokhanovii* Galushko), шиповник Коса (*R. kossii* Galushko), жимолость кавказская (*Lonicera caucasica* Pall.), смородина Биберштейна (*Ribes biebersteinii* Berland. ex DC.), барбарис (*Berberis vulgaris* L).

Одним из самых перспективных направлений селекции является использование диких родичей культурных растений, поэтому их сбор в ходе экспедиции был очень актуален. В результате были собраны дикорастущие родичи моркови (*Daucus carota* L.), салата (*Lactuca serriola* L., *Lactuca* sp.), лука (*Allium* sp.), цикория (*Cichorium intybus* L.), тмина (*Carum carvi* L.), спаржи (*Asparagus officinalis* L.), льна (*Linum* sp.). Кроме того, были собраны семена и живые растения душицы (*Origanum vulgare* L.), щавеля (*Rumex acetosa* L., *R. aquaticus* L., *R. alpinus* L.), мяты (*Mentha arvensis* L.), тимьяна (*Thymus* sp.), котовника (*Nepeta cataria* L.) (табл. 2).

Особый интерес представляли найденные в Приэльбрусье образцы щавеля водяного и альпийского. Эти виды представлены в коллекции ВИР единичными образцами европейского происхождения, привлечение

Таблица 2. Перечень дикорастущих видов растений и места сбора на территории Кабардино-Балкарской Республики в 2019 г.

Table 2. The list of wild plant species and their collection sites in Kabardino-Balkaria in 2019

Вид/род	Место сбора	Координаты, высота (h) н. у. м.
Origanum vulgare L., *Rumex acetosa* L.	Черекский район, перед Голубым озером, за с. Бабугент	N 43° 14’ 91” E 43° 31’ 90” h – 829 m
Hypericum perforatum L., *Daucus carota* L.	Черекский район, Нижнее Голубое озеро	N 43° 13’ 52” E 43° 32’ 24” h – 839 m
Thymus sp, *Allium sp*, *Mentha arvensis* L., *Solanum nigrum* L., *Carum carvi* L., *Heracleum mantegazzianum* Somm. et Levier	Черекский район, туннель, правый берег р. Черек	N 43° 11’ 02” E 43° 31’ 02” h – 1230 m
Mentha arvensis L, *Lactuca serriola* L., *Allium* sp., *Nepeta cataria* L.	Черекский район, с. Верхняя Балкария	N 43° 07’ 56” E 43° 27’ 53” h – 1111 m
Origanum vulgare L., *Cichorium intybus* L.	Черекский район, с. Герпегеж, опушка леса	N 43° 22’ 18” E 43° 38’ 05” h – 716 m
Lactuca sp., Fragaria sp.	Чегемский район, Малые Чегемские водопады	N 43° 28’ 11” E 43° 16’ 19” h – 1025 m
Physalis sp., *Allium* sp., *Origanum vulgare* L., *Brassica* sp.	Чегемский район, с. Хушто-Сырт, склон горы	N 43° 25’ 37” E 43° 13’ 55” h – 1054 m
Nepeta cataria L., *Daucus carota* L., *Hippophae* L., *Allium* sp., *Brassica* sp., *Linum* sp., *Asparagus officinalis* L.	Чегемский район, левый берег р. Чегем в 2 км от Верхних водопадов	N 43° 23’ 26” E 43° 11’ 14” h – 1220 m
Allium sp., *Linum* sp., *Origanum vulgare* L.	Чегемский район, правый берег р. Чегем, окрестности гост. Дельтапланеристов	N 43° 18’ 02” E 43° 09’ 28” h – 1469 m
Cardamine seidlitziana Albov	Чегемский район, Верхние водопады	N 43° 25’ 01” E 43° 12’ 55” h – 1228 m
Cichorium intybus L.	Эльбрусский район, с. Былым, обочина дороги	N 43° 27’ 59” E 43° 02’ 29” h – 1039 m
Heracleum mantegazzianum Somm. et Levier.	Эльбрусский район, пос. Эльбрус, обочина дороги	N 43° 15’ 03” E 42° 38’ 17” h – 1800 m
Rumex aquaticus L., *Rumex acetosa* L., *Trifolium canescens* Willd., *T. pratense* L., *Cardamine seidlitziana* Albov, *Lactuca* sp., *Blitum virgatum* L.	Эльбрусский район, долина Нарзанов	N 43° 14’51” E 42° 33’37” h – 1964 m
Blitum virgatum L.	Эльбрусский район, с. Байдаево	N 43° 14’ 50” E 42° 34’ 28” h – 1936 m
Dactylis glomerata L., *Poa nemoralis* L., *Trifolium canescens* Willd.	Эльбрусский район, Приэльбрусье, гора Чегет, альпийские луга	N 43° 14’ 24” E 42° 29’ 47” h – 3079 m
Origanum vulgare L., *Allium sp., Vaccinium* sp., *Rumex alpinus* L., *Pyrethrum* sp., *Lactuca* sp.	Эльбрусский район, Приэльбрусье, гора Чегет, альпийские луга	N 43° 14’ 31” E 42° 30’ 25” h – 2711 m
Lactuca sp.	Эльбрусский район, ущелье Адылсу	N 43° 14’ 16” E 42° 30’ 25” h – 1868 m
Rumex acetosa L., *Brassica* sp., *Allium* sp., *Lactuca* sp.	Эльбрусский район, п. Эльбрус, левый берег р. Баксан	N 43° 14’ 58” E 43° 38’ 26” h – 1788 m

образцов этих видов из горных районов РФ способствует расширению разнообразия коллекции. Собранные семена и живые растения душицы произрастали в различных экологических условиях и представляли собой разнообразие морфотипов – от высокорослых до стелющихся. Образцы пряно вкусовых (мята, котовник, тимьян, тмин) и лекарственных (зверобой, пиретрум, сердечник) растений, собранные в ходе экспедиции, расширят коллекцию малораспространенных культур. Образцы борщевика Мантенгацци, собранные в границах естественного ареала, представляют интерес для сравнительного изучения генофонда аборигенных и адвентивных популяций этого вида.

Образцы диких родичей культурных растений (морковь, лук, салат, спаржа, цикорий) впервые привезены из этого региона, что, несомненно, важно для коллекций этих культур и дальнейшего их изучения близости к культурным формам, устойчивости к абиотическим и биотическим стрессорам, а также уточнению таксономического положения.

Наблюдаемое по маршруту экспедиции богатое разнообразие естественной флоры КБР перспективно для дальнейшего изучения с целью пополнения коллекции ВИР дикими родичами культурных растений. Актуальным представляется проведение дополнительных экспедиций по сбору плодовых, кормовых и зернобобовых культур с исследованной территории, а также обследование степной зоны овощеводства республики.

Заключение

Таким образом, на территории Кабардино-Балкарской Республики при обследовании городских рынков, фермерских и личных подсобных хозяйств населения, горных районов было собрано 256 образцов местных и селекционных сортов овощных и бахчевых культур.

Определены российские и зарубежные селекционные фирмы, сорта которых распространены на территории КБР: «Гавриш», «Седек», «Аэлита», «Поиск», «Сибирский сад», Seminis, Bejo, Rijk Zwaan, Enza Zaden (Нидерланды), Hazera (Limagrain) и Clause (Франция), Cora (Италия), Takii, Sakata, Kitano Seeds (Япония), Bursa (Турция).

Выявлены основные овощные культуры региона и привлечены в коллекцию ВИР местные сорта: тыква плетистая, твердокорая, мускатная и крупноплодная, кабачок, томат, лук, чеснок, укроп, тмин, кориандр и другие пряновкусовые.

Собрано 69 семенных и вегетирующих образцов дикорастущих родичей культурных овощных растений, а также некоторых кормовых.

Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0662-2019-003 «Генетические ресурсы овощных и бахчевых культур мировой коллекции ВИР: эффективные пути расширения разнообразия, раскрытия закономерностей наследственной изменчивости, использования адаптивного потенциала».

The research was performed within the framework of the State Task according to the theme plan of VIR, Project No 0662-2019-003 "Genetic resources of vegetable and cucurbit crops in the VIR global collection: effective ways to expand their diversity, disclose the patterns of hereditary variability, and use their adaptive potential".

References/Литература

Akinfiev I.Ya. The flora of Central Caucasus (Flora Tsentralnogo Kavkaza). *Trudy obshchestva ispytateley prirody pri Imperatorskom Kharkovskov universitete = Proceedings of the Society of Naturalists at the Imperial Kharkov University*. 1894;27:123-332. [in Russian] (Акинфиев И.Я. Флора Центрального Кавказа. *Труды общества испытателей природы при Императорском Харьковском университете*. 1894;27:123-332).

Bulokhov A.D., Solomeshch A.I. Syntaxonomy of forests of Russian South Nechernozemie. Bryansk: BGU; 2003. [in Russian] (Булохов А.Д., Соломещ А.И. Эколого-флористическая классификация лесов Южного Нечерноземья России. Брянск: БГУ; 2003).

Gashtova A.A., Aleksanova N.V., Afashokova K.M., Zemlyakova A.A., Kisheva I.N., Malamusova M. Kh., Guzeeva A.R. Kabardino-Balkarian Republic. 2019: Statistical yearbook (Kabardino-Balkarskaya Respublika. 2019. Statisticheskiy yezhegodnik). Nalchik; 2019. [in Russian] (Гаштова А.А., Алексанова Н.В., Афашокова К.М., Землякова А.А., Кишева И.Н., Маламусова М.Х., Гузеева А.Р. Кабардино-Балкарская Республика. 2019: Статистический ежегодник. Нальчик; 2019).

Guryanov V.V. Geography of the Kabardino-Balkarian ASSR: School essay (Geografiya Kabardino-Balkarskoy ASSR: Shkolny ocherk). Nalchik; 1964. [in Russian] (Гурьянов В.В География Кабардино-Балкарской АССР: Школьный очерк. Нальчик; 1964).

Kosikov I.G., Kosikova L.S. Geographic location and nature resource of Kabardino-Balkaria (Geograficheskoye polozheniye i prirodnye resursy Kabardino-Balkarii). 2001. [in Russian] (Косиков И.Г., Косикова Л.С. Северный Кавказ: Географическое положение и природные ресурсы Кабардино-Балкарии. 2001). URL: https://www.kavkaz-uzel.eu/articles/9379/ [дата обращения: 07.05.2020].

Mirzoeva F.M., Bachiev R.A., Gongapshev R.M. Features territorial-branch structure of production KBR and its influence on an ecosystem. *Fundamental Research*. 2014;11(11):2485-2488. [in Russian] (Мирзоева Ф.М., Бачиев Р.А., Гонгапшев Р.М. Особенности территориально-отраслевой структуры производства КБР и ее влияние на экосистему. *Фундаментальные исследования*. 2014;11(11):2485-2488).

Portenier N.N. Flora and botanical geography of the North Caucasus: Selected works (Flora i botanicheskaya geografiya Severnogo Kavkaza). A.K. Sytin, D.V. Geltman (comp.). Moscow; 2012. [in Russian] (Портениер Н.Н. Флора и ботаническая география Северного Кавказа: избранные труды / сост. А.К. Сытин, Д.В. Гельтман. Москва; 2012).

Portenier N.N. The system of geographical elements of the Caucasus flora (Sistema geograficheskikh elementov flory Kavkaza). *Botanicheskii zhurnal = Botanical Journal*. 2000;85(9):26-33. [in Russian] (Портениер Н.Н. Система географических элементов флоры Кавказа. *Ботанический журнал*. 2000;85(9):26-33).

Report on the state and environmental protection in the Kabardino-Balkarian Republic in 2014 (Doklad o sostoyanii i ob okhrane okruzhayushchey sredy v Kabardino-Balkarskoy Respublike v 2014 godu). Nalchik; 2015. [in Russian] (Доклад о состоянии и об охране окружающей среды в Кабардино-Балкарской Республике в 2014 году. Нальчик; 2015).

Shhagapsoev S.H. Vegetation cover of Kabardino-Balkaria (Rastitelny pokrov Kabardino-Balkarii). Nalchik: Tetragraf; 2015. [in Russian] (Шхагапсоев С.Х. Растительный покров Кабардино-Балкарии. Нальчик: Тетраграф; 2015).

Shhagapsoev S.H., Chadaeva V.A., Tsepkova N.L., Shhagapsoeva K.A. Materials to the black list of flora of the Central Caucasus (within Kabardino-Balkarian Republic). *Russian Journal of Biological Invasions*. 2018;11(3):119-129. [in Russian] (Шхагапсоев С.Х, Чадаева В.А., Цепкова Н.Л, Шхагапсоева К.А. Материалы к «черному списку» флоры Центрального Кавказа (в пределах Кабардино-Балкарской республики). *Российский журнал биологических инвазий*. 2018;11(3):119-129).

Shhagapsoev S.H., Volkovich V.B. Vegetation cover of Kabardino-Balkaria and its protection (Rastitelny pokrov Kabardino-Balkarii i yego okhrana). Nalchik: Elbrus; 2002. [in Russian] (Шхагапсоев С.Х., Волкович В.Б. Растительный покров Кабардино-Балкарии и его охрана. Нальчик: Эльбрус; 2002).

Tsepkova N.L. On syntaxonomy of mesophilic meadows of the Central Caucasus (within Kabardino-Balkaria). *Proceedings of the RAS Ufa Scientific Centre*. 2016;4:62-68. [in Russian] (Цепкова Н.Л. К синтаксономии мезофильных лугов Центрального Кавказа (в пределах Кабардино-Балкарии). *Известия Уфимского научного центра РАН*. 2016;4:62-68).

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

Курина А.Б., Калашникова Л.М., Паритов А.Ю., Киржинов Г.Х., Артемьева А.М. Мобилизация генетических ресурсов растений с территории Кабардино-Балкарской Республики. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(3):9-16. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-9-16

Kurina A.B., Kalashnikova L.M., Paritov A.Yu., Kirzhinov G.Kh., Artemyeva A.M. Mobilization of plant genetic resources from the territory of the Kabardino-Balkarian Republic. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(3):9-16. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-9-16

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/10.30901/2227-8834-2020-3-9-16

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
Kurina A.B. https://orcid.org/0000-0002-3197-4751
Paritov A.Yu. https://orcid.org/0000-0002-5680-4978
Artemyeva A.M. https://orcid.org/0000-0002-6551-5203

Анализ уровня мобилизации комплекса *Medicago falcata* s.l. на территории СССР

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-17-24
УДК 633.313: 581.9
Поступление/Received: 12.12.2019
Принято/Accepted: 21.09.2020

An analysis of the *Medicago falcata* s.l. alfalfas collected in the ex-USSR territories for the fullness of their coverage

Н. Ю. МАЛЫШЕВА, Л. Л. МАЛЫШЕВ

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

N. YU. MALYSHEVA, L. L. MALYSHEV

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

Актуальность. Коллекция дикорастущих желтых люцерн из комплекса *Medicago falcata* L. s.l. ВИР – уникальный материал, собранный в экспедициях на территории СССР с 1924 по 2018 г. Это собственно *Medicago falcata* L., *M. borealis* Grossh., *M. romanica* Prod., *M. quasifalcata* Sinsk., *M. difalcata* Sinsk., *M. glandulosa* David. Применение gap-анализа позволяет оценить достаточность сборов видов из ряда серповидных люцерн (ser. *Falcatae* Vass.) в коллекции ВИР в конкретной местности или административной единице и планировать сборы для всеобъемлющего сохранения генетического разнообразия. **Материал и методика.** Материалом послужили базы данных отдела генетических ресурсов многолетних кормовых культур ВИР и электронные карты – топографические и административного деления России и сопредельных стран. В качестве операционных единиц рассматривались административные единицы СССР. Для каждой из операционных единиц учитывалось число видов и число образцов на территории административной единицы. Статистическая обработка данных включала построение таблиц частот и составление дифференцированных карт. **Результаты.** Определены координаты 446 образцов коллекции. Проведен анализ сборов шести дикорастущих видов на территории СССР и детальный анализ в Краснодарском крае. **Заключение.** Для повышения разнообразия коллекции ВИР необходимы дополнительные сборы и ее пополнение из сопредельных стран. Особую ценность представляют образцы из ряда серповидных люцерн на северной границе ареала в европейской части и на восточной границе ареала в Сибири, где условия обитания люцерны являются экстремальными.

Ключевые слова: люцерна серповидная, таксоны, генетические ресурсы, происхождение, gap-анализ.

Background. The collection of wild yellow alfalfas from the *Medicago falcata* s.l. complex maintained at the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR) is a unique genetic stock collected while exploring the ex-USSR territories from 1924 to 2018. It includes *Medicago falcata* L. proper, *M. borealis* Grossh., *M. romanica* Prod., *M. quasifalcata* Sinsk., *M. difalcata* Sinsk., and *M. glandulosa* David. Gap analysis makes it possible to assess the sufficiency of VIR's collecting efforts in a certain locality or administrative unit and plan further collecting activities to ensure comprehensive conservation of sickle alfalfa genetic diversity. **Material and methods.** Databases of the Perennial Forage Crop Genetic Resources Department at VIR, and digital maps of administrative subdivisions of Russia and neighboring countries served as the research material. The ex-USSR administrative subdivisions were accepted as operational units. For each of them, the number of ser. *Falcatae* Vass. species and the number of accessions per administrative subdivision were taken into account. Statistical data processing included construction of frequency tables and differentiated mapping. **Results.** The coordinates of collection sites were identified for 446 accessions. Collections of six wild species within the studied complex were analyzed across the ex-USSR space, and in more detail in Krasnodar Territory. **Conclusion.** The target areas were identified for further collecting activities. For Russia, the prioritized regions where the collection could be replenished are the northern frontier of the area of sickle alfalfa distribution in the European part and its eastern borderline in Siberia, both characterized by extreme environmental conditions. To increase the geographic diversity of the collection, additional collecting efforts are required, along with mobilization of accessions from the neighboring countries.

Key words: sickle alfalfa, taxa, genetic resources, origin, gap analysis.

Введение

Люцерна серповидная, или желтая – *Medicago falcata* L. – и близкие к ней виды относятся к подроду *Falcago* (Reichb.) Grossh. рода *Medicago* L. и являются ближайшими родичами ценных и повсеместно используемых в кормовых целях люцерны посевной (*M. sativa* L.) и изменчивой (*M. varia* Mart.).

M. falcata – полиморфный, широко распространенный вид. На территории бывшего СССР в природе встречается от западных границ до Дальнего Востока, от Якутии на севере до зоны пустынь на юге. Столь широкое распространение вида предполагает широкий спектр морфологической изменчивости. Из вида *M. falcata* в широком смысле (sensu lato), или из ряда серповидных люцерн (ser. *Falcatae* Vass.) разными авторами выделено несколько видов. Общие признаки видов, согласно которым они включены в эту группу: желтоокрашенный венчик цветка и прямые или серповидные бобы, голые или опушенные (Vasilchenko, 1949). А. А. Гроссгейм относил к этой группе три вида: собственно люцерну серповидную (*M. falcata*), люцерну северную (*M. borealis* Grossh.)

и люцерну румынскую, или степную (*M. romanica* Prod.) (Grossheim, 1945). Е. Н. Синская разделила вид *M. falcata* на три вида: люцерну серповидную – *M. falcata* (sensu stricto), люцерну серпообразную (майкопскую предгорную) – *M. quasifalcata* Sinsk. и люцерну южноказахстанскую – *M. difalcata* Sinsk. (Sinskaya, 1945). Согласно И. Т. Васильченко, к ряду серповидных люцерн относятся три вида: люцерна серповидная, люцерна румынская и люцерна железистая (*M. glandulosa* David.) (Vasilchenko, 1949). Виды из группы серповидных люцерн, выделенные и описанные указанными авторами, были признаны П. А. Лубенцом как самостоятельные, исключая люцерну румынскую (Lubenets, 1972). Позднее данную классификацию поддержал А. И. Иванов (Ivanov, 1980). Зарубежные авторы рассматривают *M. falcata* как подвид люцерны посевной (*M. sativa* subsp. *falcata* (L.) Arcengeli) (Small, 2011), а выделенные из нее виды сводят в синонимы подвида (Lesins K.A., Lesins I., 1972).

Коллекция люцерны отдела генетических ресурсов многолетних кормовых культур ВИР была сформирована в соответствии с системой, принятой П. А. Лубенцом. В последнее время в коллекции появилось несколько образцов люцерны из группы серповидных, обозначенных сборщиками как «румынская», которые также были включены в настоящую работу под этим названием. Всего в коллекции представлено шесть видов из ряда серповидных люцерн.

Из этих шести видов комплекса только *M. falcate* – тетраплоидный вид (2n = 32); остальные пять – диплоидные (2n = 16). Существует мнение, что в дикорастущих популяциях *M. falcata* встречаются как диплоидные, так и тетраплоидные формы, но они морфологически неразличимы (Lesins K.A., Lesins I., 1972).

Ареал люцерны серповидной (*M. falcata*) простирается от Великобритании, Испании и Марокко на западе до верховьев реки Амур на востоке; включает в себя в Северной Африке Марокко и Алжир; в Европе – среднюю и южную части; в Азии – Сирию, Турцию, Иран, Афганистан, западную Индию, Монголию, Китай.

На территории Советского Союза ареал охватывает Прибалтику (до севера и запада Эстонии) (Talts, 1959), Белоруссию (Fedchenko, 1950), всю Украину (Visyulina, 1964), Молдавию. На северо-западе европейской части северная граница ареала проходит по территории Ленинградской области (Tzvelev, 2000); самая северная находка обнаружена в Карелии в г. Кемь (64° с. ш.) (Kravchenko, 2007). На северо-востоке европейской части вид отмечен в районе г. Плесецка в Архангельской области, ст. Кожва (65° с. ш.), г. Ухты и г. Сыктывкара в Республике Коми (Kobeleva, 1976). В Западной Сибири вид указан в Тюменской, Курганской, Омской, Томской, Новосибирской, Кемеровской областях, Алтайском крае и Горном Алтае; в Восточной Сибири – в Хакассии, Туве, Иркутской и Читинской областях, Бурятии, Якутии. Якутские точки сбора – самые северные: Вилюйско-Верхнеленский район, у поселка Верхняя Амга в Алданском районе и у поселка Тикси (71° с. ш.). (Kurbatsky, 1994). Е. Хансен в 1909 году сообщил о нахождении желтой люцерны у Верхоянска (68° с. ш.) (Vasilchenko, 1949). На Дальнем Востоке люцерна серповидная отмечена в Нижне-Зейском, Буреинском и Уссурийском флористических районах – скорее всего, заносная (Pavlova, 1989). В Казахстане люцерна серповидная встречается на всей территории, кроме Мангышлакской и Кзыл-Ординской областей (Goloskokov, 1961; Ivanov et al., 1986), хотя есть указание на местонахождение люцерны серповидной на полуострове Мангышлак (Khasanov, 1972). В Средней Азии вид отмечен в системах Тянь-Шаня: Западного (Таласский Алатау, Киргизский хребет и Сусамирская долина, Токтогульская котловина, Таласская и Чаткальская долины), Центрального (Нарынтау, Кочкорская и Нарынская котловины), Восточного (Джунгарский Алатау, Тарбагатай) и Северного (Джумгалтау, Заилийский, Терскей и Кунгей Алатау, Иссык-Кульская котловина, Чуйская долина и бассейн реки Чонг-Кемин) (Khasanov, 1972; Lazkov, Sultanova, 2014). В горных системах люцерна серповидная была обнаружена на высоте более 2000 метров. Во флоре Кавказа вид встречается в Предкавказье, Дагестане, Западном и Восточном Закавказье (Grossheim, 1952; Isaev, 1954).

Ареал люцерны железистой (*M. glandulosa*) приурочен к южной Европе; в пределах СССР – к северной части кавказского побережья Черного моря и Южному берегу Крыма, к побережью Азовского моря в Донецкой и Херсонской областях Украины (Vasilchenko, 1949; Lubenets, 1972).

Люцерна серпообразная (*M. quasifalcata*) распространена на северо-западной части Кавказа, в предгорьях Дагестана, Краснодарском и Ставропольском краях, Ростовской области и Западном Закавказье (Lubenets, 1972).

Ареал люцерны северной (*M. borealis*) находится в средней части Нечерноземной зоны (Ивановская, Тульская, Московская, Ярославская области), на северо-западе европейской части СССР (Псковская и Новгородская области); вид указан для Белоруссии и Эстонии (Fedchenko, 1950; Talts, 1959; Lubenets, 1972). Согласно А. А. Гроссгейму, ареал вида включает Западную Сибирь (Grossheim, 1945).

В Европе люцерна румынская (*M. romanica*) известна из Румынии, Болгарии, Венгрии (Vasilchenko, 1949). Вид встречается в степной зоне до Батуми и Дагестана, северная граница ареала проходит по Ленинградской области в окрестностях Санкт-Петербурга (в Пушкинском и Гатчинском районах) (Tzvelev, 2000); есть находки в Эстонии (Talts, 1959), Новгородской области (Tzvelev, 2000) и Белоруссии (Fedchenko, 1950). Самая северная точка нахождения люцерны румынской – в г. Кеми в республике Карелия (Kravchenko, 2007). Ареал вида распространяется на азиатскую степную часть СССР: Северный, Западный и Восточный Казахстан, Западную Сибирь; в Средней Азии – Киргизский Алатау, Сусамыртау, Кунгей, Заилийский и Джунгарский Алатау (Vasilchenko, 1949; Goloskokov, 1961; Khasanov, 1972). На Кавказе люцерна румынская встречается в Восточном Закавказье, Дагестане, Предкавказье (Grossheim, 1952; Isaev, 1954).

Область распространения люцерны южноказахстанской (*M. difalcata*) – Западный Казахстан, Северное Приаралье, Тургайское плато, Казахский мелкосопочник, Балхаш-Алакульская низменность, Тарбагатай, Джунгарский Алатау, Центральный и Северный Тянь-Шань (Ivanov et al., 1986).

В коллекции ВИР имеются селекционные и местные сорта из рассматриваемой группы. Селекция проводилась ранее и продолжается в настоящее время на территории Российской Федерации, Эстонии и Украины. В настоящее время в Государственном реестре селекционных достижений, допущенных к использованию в РФ в 2019 году, насчитывается семь сортов *M. falcate* s.l. (State register..., 2019).

Существующая коллекция люцерны серповидной представлена в основном дикорастущими образцами. В связи с этим представляется актуальной проблема оценки генетического разнообразия коллекции. Прямая оценка генетического разнообразия затруднительна, поэтому используется косвенная методика его оценки. Косвенной оценкой генетического разнообразия коллекции может служить информация об экологической амплитуде и географическом распространении таксона (Maxted et al., 1995; Maxted, Guarino, 2003), подразумевая наличие корреляции между эколого-географическим разнообразием местообитаний и структурой генетического разнообразия популяций из данных местообитаний. Выборка популяций из отдаленных мест и разнообразных местообитаний обеспечит репрезентативную выборку генетического разнообразия таксона (Maxted et al., 1995). Анализ географического распределения образцов коллекции позволяет при этом выделить долю генетического разнообразия, которая не охвачена существующими сборами, то есть «пробелы» в имеющейся коллекции таксона (gap-анализ), и помогает заполнить эти «пробелы».

Материал и методика

Материалом для исследования послужили базы данных отдела генетических ресурсов многолетних кормовых культур ВИР, электронные карты, созданные в 2003–2009 гг. при подготовке «Агроэкологического атласа России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их болезни, вредители и сорные растения» (Afonin et al., 2008), и карты административного деления СССР, созданные авторами.

Для выявления «пробелов» в мобилизации таксономического и эколого-географического разнообразия комплекса *M. falcate* s.l. (gap-анализа) нами были составлены дифференцированные карты числа сборов коллекции по операционным единицам.

В качестве операционных единиц нами рассматривались административные единицы СССР сопоставимого ранга: бывшие союзные республики (если они не имели деления на области), области, края, автономные республики, а также автономные области и округа в границах административного устройства СССР. Использовали территориальное деление на 1991 год. При сборе семян разными сборщиками не всегда была указана конкретная точка сбора, особенно это касается самых ранних поступлений. Чаще всего указывали район сбора, реже – область, иногда – только союзную республику.

Для каждой из операционных единиц учитывалось:

1) общее число видов ser. *Falcatae* на территории административной единицы;

2) общее число образцов на территории административной единицы.

Статистическая обработка данных включала построение таблиц частот и вычисление доверительных интервалов средних с использованием пакета Statistica 12.0; дифференцированные карты числа сборов составлены с помощью MapInfo 8.5.

Результаты

Распределение сборов по территории СССР

Из 599 дикорастущих образцов, собранных на территории СССР, для 446 определены координаты точек сбора (рис. 1).

Основу коллекции составляют образцы *M. falcata* s.str.; большая их часть имеет местом происхождения Российскую Федерацию. *M. quasifalcata*, вторая по численности группа, представлена 53 образцами из Краснодарского и Ставропольского краев и Республики Адыгея. Третью группу образуют сборы *M. difalcata* из Казахстана (таблица).

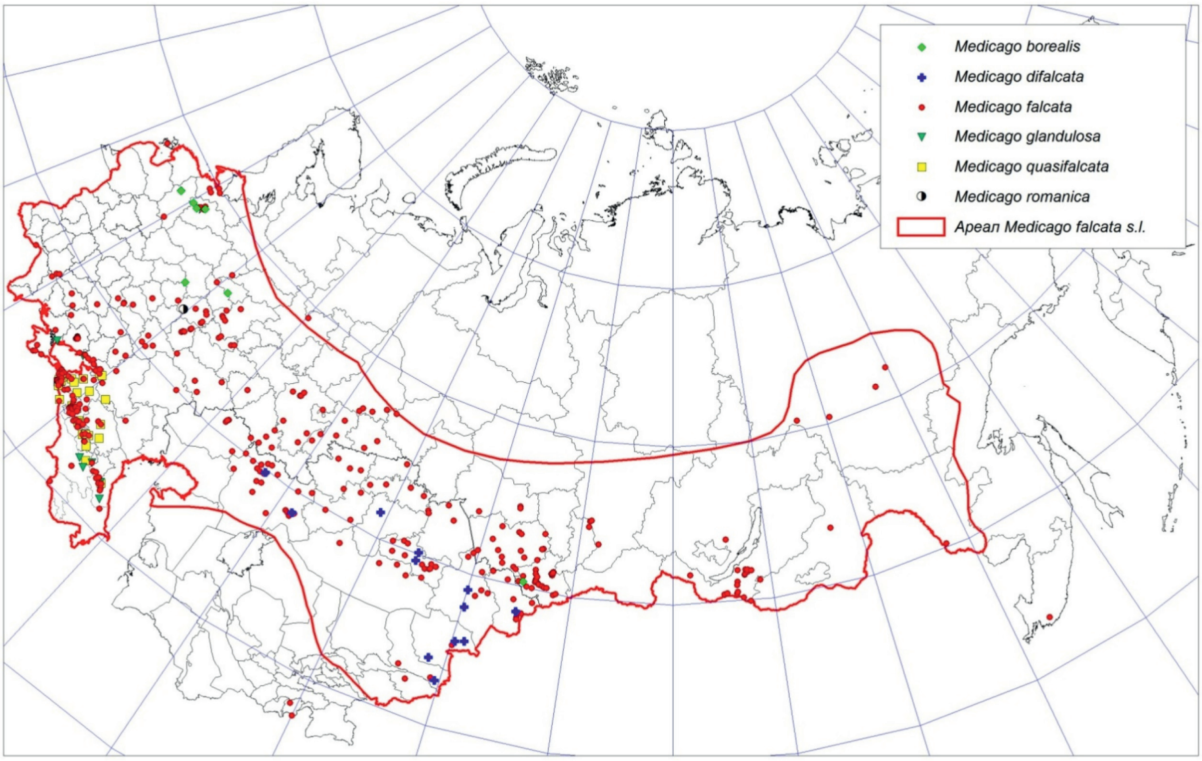


Рис. 1. Места сбора образцов коллекции ser. *Falcatae* Vass. на территории СССР

Fig. 1. Collection sites of ser. *Falcatae* Vass. accessions over the ex-USSR territory

Таблица. Таксономический состав и распределение дикорастущих образцов коллекции ser. *Falcatae* Vass. по республикам СССР

Table. Taxonomic composition and distribution of wild accessions from the collection of ser. *Falcatae* Vass. across the former republics of the USSR

Республика	*Medicago falcata* L.	*Medicago difalcata* Sinsk.	*Medicago romanica* Prod.	*Medicago borealis* Grossh.	*Medicago quasifalcata* Sinsk.	*Medicago glandulosa* David.	Всего
Азербайджан	3	0	0	0	0	0	**3**
Армения	3	0	0	0	0	0	**3**
Казахстан	141	23	1	0	0	0	**165**
Кыргызстан	7	0	0	0	0	0	**7**
Россия	301	0	7	12	53	9	**382**
Таджикистан	1	0	0	0	0	0	**1**
Узбекистан	1	0	0	0	0	0	**1**
Украина	31	0	0	0	0	2	**33**
Эстония	1	0	0	1	0	0	**2**
Грузия	0	0	0	0	0	2	**2**
Всего	**489**	**23**	**8**	**13**	**53**	**13**	**599**

Для оценки степени мобилизации нами была вычислена частота сборов по видам и комплексу в целом для каждой административной единицы (всего 176 единиц сопоставимого ранга). Для семи образцов из Казахстана (пять образцов *M. falcata* и два образца *M. difalcata*), шести образцов из Киргизии и по одному образцу из Украины и Узбекистана точное место сбора неизвестно.

На территорию 42 административных единиц ареалы видов из ряда серповидных люцерн не распространяются. В пределах ареала сборы не проводили в 54 административных единицах; имеются единичные сборы (1-2 образца) в 29 регионах. Средняя насыщенность сборов (3–6 образцов) зафиксирована в 32, высокая (7–25 образцов) – в 13 и очень высокая (больше 25 образцов) – в 6 административных единицах (рис. 2).

Распределение образцов по административным единицам отражено на рисунке 3.

Насыщенность сборов на изученной территории крайне неравномерна. В коллекции ВИР полностью отсутствуют сборы с территории республик европейской части СССР: из Белоруссии, Литвы, Латвии, Молдавии и большей части Украины. Единичные сборы получены из Эстонии (о. Саарема), шести областей Украины. Высокая частота сборов наблюдается только в Запорожской области Украины.

В Закавказье люцерны из группы серповидных встречаются относительно редко и в коллекции представлены шестью образцами, в том числе двумя образцами *M. glandulosa* из Грузии (вид ранее не указан для этой территории).

В европейской части Российской Федерации наиболее полно охвачен сборами Северный Кавказ, а точнее Краснодарский и Ставропольский края и республика Адыгея (более 30% сборов). В остальных республиках Северного Кавказа сборы или единичные, или средней насыщенности. Сравнительно полно представлены в коллекции генетические ресурсы северо-запада европейской части; но нет сборов из Вологодской области. Слабо представлен в коллекции генофонд из Центрального региона и Поволжья.

На Урале отсутствуют сборы на территории Пермского края; относительно высокая частота сборов – в Республике Башкортостан; в остальных областях – средняя насыщенность сборов.

В Западной Сибири выделяются по насыщенности сборов Алтайский край и Республика Алтай (15% сборов на территории РФ). В коллекции отсутствуют сборы из Томской и Кемеровской областей. Слабо представлены генетические ресурсы люцерны из Восточной Сибири, хотя относительно большое количество образцов происходит из Якутии и Бурятии; отсутствуют сборы из Республики Хакасия; в остальных административных единицах сделаны единичные сборы. Следует особо отметить, что сборы в Республике Саха (Якутия) охватывают почти весь ареал *M. falcata* на ее территории.

На территории Казахстана очень высокая насыщенность сборов наблюдается в Карагандинской (в границах 1991 года) и Актюбинской областях. Отсутствуют сборы из Гурьевской, Джамбульской и Кокчетавской областей.

В Киргизии точно известно происхождение одного образца (Иссык-Кульская область). Два образца люцерны собраны на территории Кулябской области Таджикистана в нехарактерных для нее местах обитания – адырах.

Таким образом, в сформированной коллекции серповидных люцерн существуют серьезные пробелы в мобилизации географического разнообразия генофонда.

Распределение сборов по территории Краснодарского края

Проведенный нами анализ распределения образцов коллекции по крупным административным единицам дает весьма грубое представление об эколого-географическом разнообразии коллекции. Данный подход не учитывает встречаемость вида (очевидно, что на границах

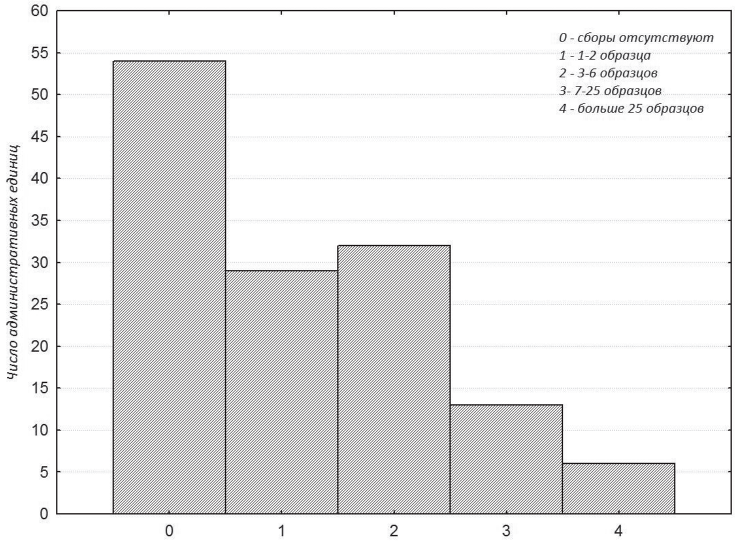


Рис. 2. Распределение административных единиц по числу сборов образцов ser. *Falcatae* Vass. на территории единицы

Fig. 2. Distribution of administrative subdivisions according to the number of ser. *Falcatae* Vass. accessions collected per operational unit

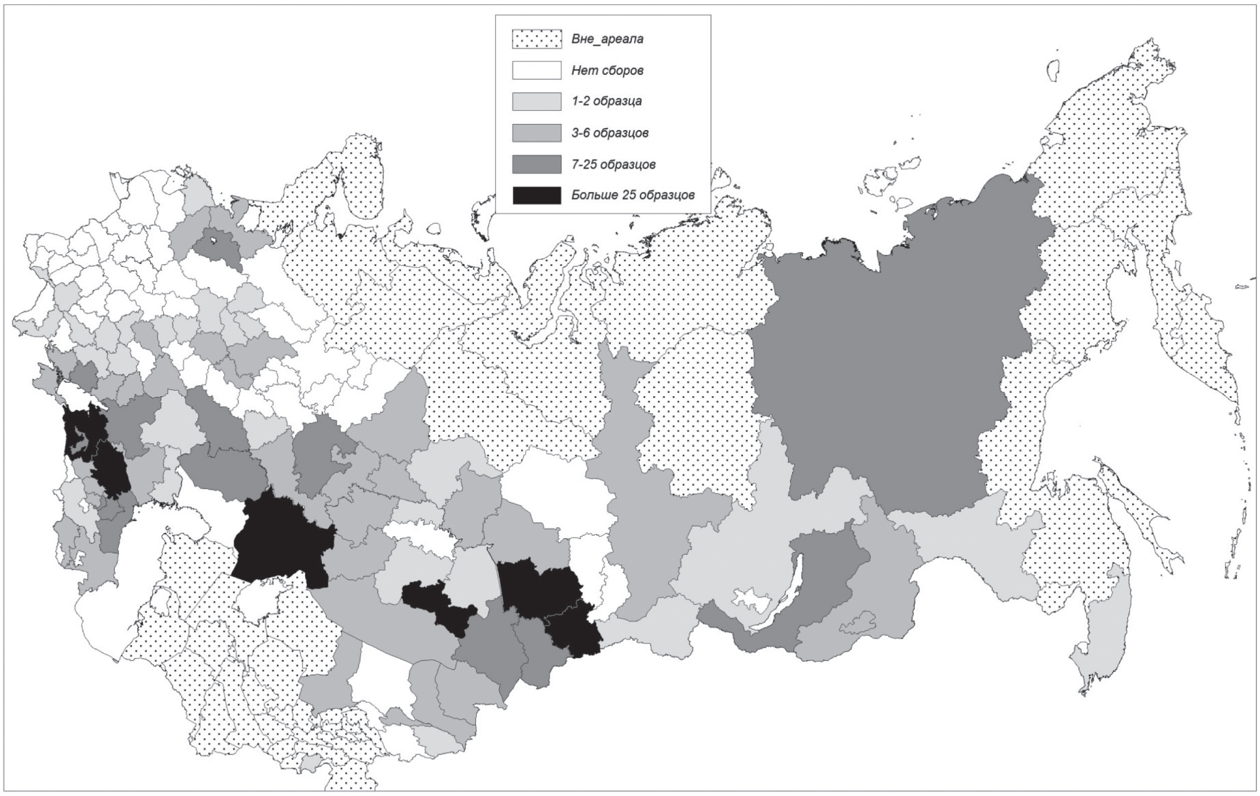


Рис. 3. Распределение сборов образцов ser. *Falcatae* Vass. на территории административных единиц СССР

Fig. 3. Distribution of ser. *Falcatae* Vass. collections over the ex-USSR administrative subdivisions

ареала она значительно ниже, чем в области ценоареала) и разнообразие местообитаний, доступных виду на территории административной единицы.

Для более тонкой оценки разнообразия коллекции мы использовали данные по мобилизации коллекционных образцов в Краснодарском крае. В качестве единицы учета использовались административные подразделения – районы и городские округа (всего 44 единицы). Доступные для люцерны серповидной местообитания встречаются по всей территории края (кроме сравнительно ограниченного пояса альпийских и субальпийских лугов) и распределены достаточно равномерно.

Всего на территории края собран 81 образец трех видов: *M. falcata*, *M. glandulosa* и *M. quasifalcata*. В 19 районах края сборы отсутствуют, еще в 13 районах собрано по одному образцу. Средняя насыщенность сборов наблюдается в шести районах и еще в шести – высокая насыщенность (рис. 4), при этом в Новороссийском городском округе собрано 14 образцов (18% всех сборов на территории края). Полученные результаты свидетельствуют о весьма низком географическом разнообразии сборов на территории Краснодарского края, несмотря на высокое общее число сборов.

Экологическое разнообразие сборов также невелико. Основная часть образцов собрана в зоне широколиственных и смешанных лесов. В степной зоне края большая часть сборов приходится на Таманский полуостров; из остальной части зоны (а это более 50% территории края) привлечены единичные образцы (рис. 5).

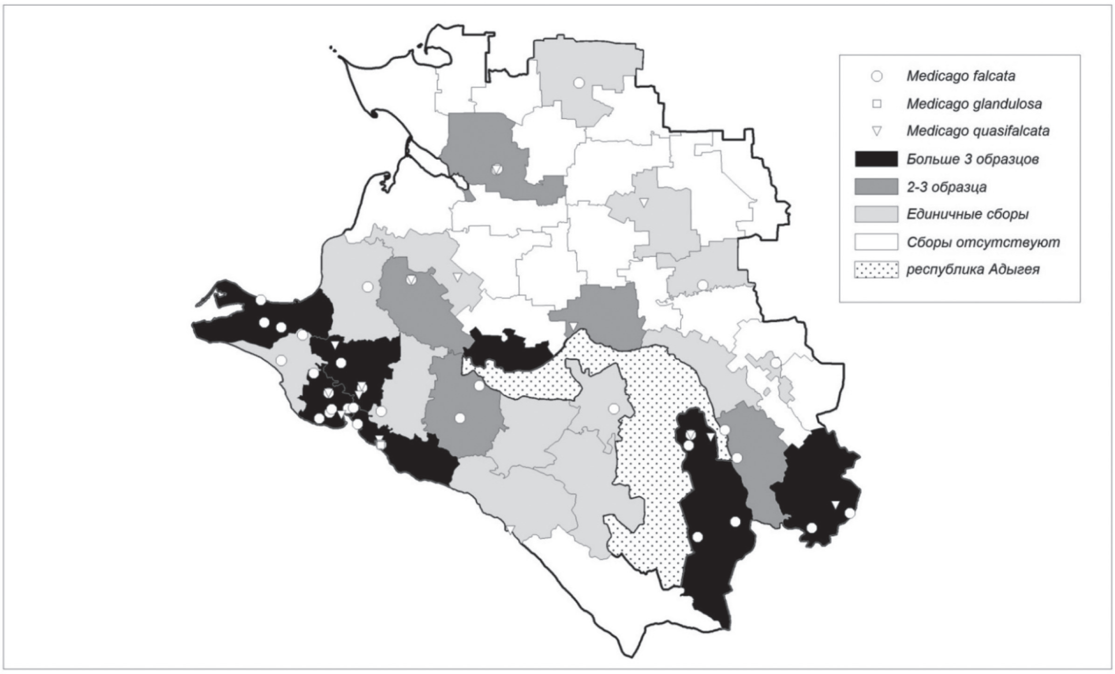


Рис. 4. Сборы видов ser. *Falcatae* Vass. на территории Краснодарского края и их распределение по административным районам

Fig. 4. Ser. *Falcatae* Vass. collection sites in Krasnodar Territory and their distribution across the administrative districts

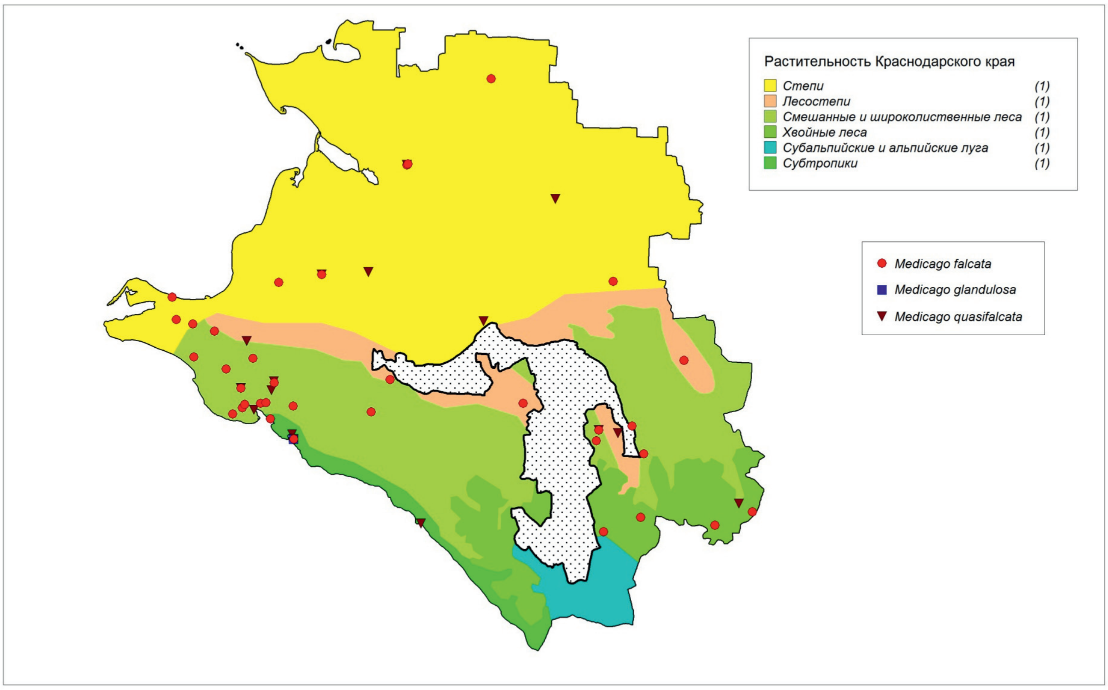


Рис. 5. Сборы видов ser. *Falcatae* Vass. на территории Краснодарского края и их распределение по природным зонам

Fig. 5. Ser. *Falcatae* Vass. collection sites in Krasnodar Territory and their distribution across the bioclimatic zones

По результатам анализа следует, что даже в таком хорошо изученном регионе, как Краснодарский край, существуют весьма существенные пробелы в мобилизации географического и экологического разнообразия генофонда *M. falcata* s.l.

Выводы

Результаты изучения географического распределения образцов коллекции позволяет сделать следующие выводы:

1. В коллекции ВИР не представлено полностью разнообразие генофонда комплекса серповидных люцерн на территории СССР. Многочисленные сборы на территории Краснодарского края распределены неравномерно по административным единицам и не представляют всего разнообразия местообитаний.
2. Для увеличения генетического разнообразия коллекции требуется провести целенаправленный сбор образцов с предварительной подготовкой: анализом литературных данных и материалов гербариев, выработкой маршрутов экспедиционных выездов.
3. Для Российской Федерации приоритетное направление пополнения коллекции – выявление и сбор образцов на северной границе ареала европейской части и на восточной границе ареала в Сибири, где условия обитания являются экстремальными и виды адаптированы к суровым условиям существования. Образцы представляют большой интерес как источники устойчивости к абиотическим факторам среды. Вовлечение их в селекционный процесс позволит расширить зону возделывания такой ценной сельскохозяйственной культуры, как люцерна.
4. Желательно привлечение в коллекцию образцов из стран Прибалтики и Беларуси.

Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0662-2019-0005 «Раскрытие потенциала и разработка стратегии рационального использования генетического разнообразия ресурсов кормовых культурных растений и их диких родичей, сохраняемого в семенных и гербарных коллекциях ВИР».

The research was performed within the framework of the State Task according to the theme plan of VIR, Project No. 0662-2019-0005 "Disclosing the Potential and Developing a Sustainable Utilization Strategy for the Genetic Diversity of Forage Crops and Their Wild Relatives Preserved in the Seed and Herbarium Collections at VIR".

References/Литература

Afonin A.N., Greene S.L., Dzyubenko N.I., Frolov A.N. (eds). Interactive Agricultural Ecological Atlas of Russia and Neighboring Countries. Economic Plants and their Diseases, Pests and Weeds [Online]. 2008. [in Russian] (Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их вредители, болезни и сорные растения / под ред. А.Н. Афонина, С.Л. Грин, Н.И. Дзюбенко, А.Н. Фролова. [Интернет-версия 2.0]. 2008). URL: http://www.agroatlas.ru [дата обращения: 19.03.2020].

Fedchenko B.A. Alfalfa – *Medicago* L. (Lyutserna – *Medicago* L.). In: N.A. Dorozhkin, M.P. Tomin (eds). *Flora of the BSSR. Vol. 3* (*Flora BSSR. T. 3*). Minsk: Academy of Sciences of the Belarusian SSR; 1950. p.185-190. [in Russian] (Федченко Б.А. Люцерна – *Medicago* L. В кн.: *Флора БССР. Т. 3* / под ред. Н.А. Дорожкина, М.П. Томина. Минск: АН Белорусской ССР; 1950. С.185-190).

Goloskokov V.P. Alfalfa – *Medicago* L. (Lyutserna – *Medicago* L.). In: N.V. Pavlov (ed.). *Flora of Kazakhstan. Vol. 5.* (*Flora Kazakhstana. T. 5*). Alma-Ata: Academy of Sciences of the Kazakh SSR; 1961. p.35-47. [in Russian] (Голоскоков В.П. Люцерна – *Medicago* L. В кн.: *Флора Казахстана. Т.5* / под ред. Н.В. Павлова. Алма-Ата: АН Казахской ССР; 1961. С.35-47).

Grossheim A.A. Alfalfa – *Medicago* L. (Lyutserna – *Medicago* L.). In: V.L. Komarov, B.K. Shishkin (eds). *Flora of the USSR. Vol. 11* (*Flora SSSR. T. 11*). Moscow; Leningrad: USSR Academy of Sciences; 1945. p.129-176. [in Russian] (Гроссгейм А.А. Люцерна – *Medicago* L. В кн.: *Флора СССР. Т. 11* / под ред. В.Л. Комарова, Б.К. Шишкина. Москва; Ленинград: АН СССР; 1945. С.129-176).

Grossheim A.A. *Medicago* L. – Lucerne – Ionja – Arvuit (*Medicago* L. — Lyutserna —Yondzha — Arvuyt). In: *Flora of the Caucasus. Vol. 5* (*Flora Kavkaza. T. 5*). Moscow; Leningrad: USSR Academy of Sciences; 1952. p.177-192. [in Russian] (Гроссгейм А.А. *Medicago* L. – Люцерна – Йонджа – Арвуйт. В кн.: *Флора Кавказа. Т. 5*. Москва; Ленинград: АН СССР; 1952. С.177-192).

Isaev Ya.M. *Medicago* L. – Alfalfa – Garaioncha (*Medicago* L. – Lyutserna – Garayoncha). In: I.I. Karyagin (ed.). *Flora of Azerbaijan. Vol. 5* (*Flora Azerbaydzhana. T. 5*). Baku: Academy of Sciences of the Azerbaijan SSR; 1954. p.248-265. [in Russian] (Исаев Я.М. *Medicago* L. – Люцерна – Гарайонча. В кн.: *Флора Азербайджана. Т. 5* / под ред. И.И. Карягина. Баку: АН Азербайджанской ССР; 1954. С.248-265).

Ivanov A.I. Alfalfa (Lyutserna). Moscow: Kolos; 1980. [in Russian] (Иванов А.И. Люцерна. Москва: Колос; 1980).

Ivanov A.I., Soskov Yu.D., Bukhteeva A.V. Resources of perennial forage plants of Kazakhstan (Resursy mnogoletnikh kormovykh rasteniy Kazakhstana). Alma-Ata: Kainar; 1986. [in Russian] (Иванов А.И., Сосков Ю.Д., Бухтеева А.В. Ресурсы многолетних кормовых растений Казахстана. Алма-Ата: Кайнар; 1986).

Khasanov O.Kh. Wild alfalfas of Central Asia (Dikorastushchiye lyutserny Sredney Azii). Tashkent: Academy of Sciences of the Uzbek SSR; 1972. [in Russian] (Хасанов О.Х. Дикорастущие люцерны Средней Азии. Ташкент: АН Узбекской ССР; 1972).

Kobeleva T.P. *Medicago* L. – Alfalfa (*Medicago* L. — Lyutserna). In: A.I. Tolmachev (ed.). *Flora of the Northeast of the European part of the USSR. Vol. 3* (*Flora Severo-Vostoka Yevropeyskoy chasti SSSR*). Leningrad: Nauka; 1976. p.153-154 [in Russian] (Кобелева Т.П. *Medicago* L. – Люцерна В кн.: *Флора Северо-Востока европейской части СССР. Т. 3* / под ред. А. И. Толмачева. Ленинград: Наука; 1976. С.153-154).

Kravchenko A.V. A compendium of Karelian flora (vascular plants). Petrozavodsk: Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences; 2007. [in Russian] (Кравченко А.В. Конспект флоры Карелии. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН; 2007).

Kurbatsky V.I. Alfalfa – *Medicago* L. (Lyutserna – *Medicago* L.). In: L.I. Malyshev, A.V. Polozhiy (eds). *Flora of Siberia. Vol. 9* (*Flora Sibiri. T. 9*). Novosibirsk: Nauka; 1994. p.196-199. [in Russian] (Курбатский В.И. Люцерна – *Medicago* L. В кн.: *Флора Сибири. Т. 9* / под ред. Л.И. Малышева, А.В. Положего. Новосибирск: Наука; 1994. С.196-199).

Lazkov G.A., Sultanova B.A. Checklist of vascular plants of Kyrgyzstan. Bishkek: National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic; 2014. [in Russian] (Лазьков Г.А., Султанова Б.А. Кадастр флоры Кыргызстана. Сосудистые растения. Бишкек: НАН Кыргызской республики; 2014).

Lesins K.A., Lesins I. Genus *Medicago* (Leguminosae). A taxogenetic study. Hague; Boston; London: Dr. W. Junk bv Publishers; 1979.

Lubenets P.A. Alfalfa – *Medicago* L. (Brief overview of the genus and classification of the subgenus Falcago (Rchb.) Grossh.). *Bulletin of Applied Botany, Genetics and Plant Breeding*. 1972;47(3):3-68. [in Russian] (Лубенец П.А. Люцерна – *Medicago* (Краткий обзор рода и классификация подрода *Falcago* (Rchb.) Grossh. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 1972;47(3):3–68).

Maxted N., Guarino L. Planning plant genetic conservation. In: R.D. Smith, J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard, R.J. Probert (eds). *Seed conservation: turning science into practice*. Kew: Royal Botanic Gardens; 2003. p.37-78.

Maxted N., Van Slageren M.W., Rihan J. Ecogeographic surveys. In: *Collecting plant genetic diversity: technical guidelines*. Wallingford: CAB International; 1995. p.255-286.

Pavlova N.S. Alfalfa – *Medicago* L. (Lyutserna – *Medicago* L.). In: S.S. Kharkevich (ed.). *Vascular Plants of the Soviet Far East. Vol. 4* (*Sosudistye rasteniya Sovetskogo Dalnego Vostoka. T. 4*). Leningrad: Nauka; 1989. p.321-324. [in Russian] (Павлова Н.С. Люцерна – Medicago L, В кн.: *Сосудистые растения Советского Дальнего Востока. Т. 4* / под ред. С.С. Харкевича. Ленинград: Наука; 1989. С.321-324).

Sinskaya E.N. About diploid species of yellow alfalfa (O diploidnykh vidakh lyutserny zheltoy). *Proceedings of the USSR Academy of Sciences*. 1945;48(4):300-302. [in Russian] (Синская Е.Н. О диплоидных видах люцерны желтой. *Доклады АН СССР*. 1945;48(4):300-302).

Small E. Alfalfa and Relatives: Evolution and Classification of *Medicago*. Ottawa: NRC Press; 2011.

State Register for Selection Achievements Admitted for Usage (National List). Vol. 1 “Plant varieties” (official publication). Moscow; 2019. [in Russian]. (Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Том 1. «Сорта растений» (официальное издание). Москва; 2019).

Talts S. Papilionaceous – Papilionaceae L. In: *Flora of the Estonian SSR. Vol. 3.* Tallinn: Estonian State Publishing House; 1959. [in Estonian; in Russian] (Тальтс С. Мотыльковые – Papilionaceae L. В кн: *Флора Эстонской ССР. Т. 4.* Таллин: Эстонское Государственное издательство; 1959).

Tzvelev N.N. Identification key for vascular plants of the Northwestern Russia (Leningrad, Pskov and Novgorod Provinces) (Opredelitel sosudistykh rasteniy severo-zapadnoy Rossii [Leningradskaya, Pskovskaya i Novgorodskaya oblasti]). St. Petersburg State Chemistry and Pharmacy Academy; 2000. [in Russian] (Цвелев Н.Н. Определитель сосудистых растений северо-западной России (Ленинградская, Псковская и Новгородская области). Санкт-Петербург: Государственная химико-фармацевтическая академия. 2000).

Vasilchenko I.T. Alfalfa: the best forage plant (Lyutserna – luchsheye kormovoye rasteniye). *Trudy Botanicheskogo instituta AN SSSR = Bulletin of the Botanical Institute of the USSR Academy of Sciences.* 1949;1(8):9-242. [in Russian] (Васильченко И.Т. Люцерна – лучшее кормовое растение. *Труды Ботанического института АН СССР*. 1949;1(8):9-242).

Visyulina O.D. Alfalfa – *Medicago* L. (Lyutserna – *Medicago* L.) In: D.K. Zerov (ed.). *Flora of the URSR. Vol. 6*. Kyiv: Academy of Sciences of the Ukrainian RSR; 1964. p.360-373. [in Ukrainian] (Вісюліна О.Д. Люцерна – *Medicago* L. В кн.: *Флора УРСР*. *Т. 6 /* под ред. Д.К. Зерова. Київ: АН Украінскоі РСР; 1964. С.360-373).

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

Малышева Н.Ю., Малышев Л.Л. Анализ уровня мобилизации комплекса *Medicago falcata* s.l. на территории СССР. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(3):17-24. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-17-24

Malysheva N.Yu., Malyshev L.L. An analysis of the *Medicago falcata* s.l. alfalfas collected in the ex-USSR territories for the fullness of their coverage. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(3):17-24. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-17-24

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/10.30901/2227-8834-2020-3-17-24

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
Malysheva N.Yu. https://orcid.org/0000-0002-5688-6694
Malyshev L.L. https://orcid.org/0000-0002-8595-1336

Поливариантность сезонной динамики активности ингибиторов трипсина у двух видов рода *Hedysarum* (Fabaceae) в условиях юга Сибири

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-25-31
УДК 577/112:633.31/37
Поступление/Received: 27.04.2020
Принято/Accepted: 21.09.2020

Trypsin inhibitor activity in representatives of the genus *Hedysarum* (Fabaceae): the polyvariance of seasonal dynamics in Southern Siberia

Е. В. ЖМУДЬ [1]*, Н. С. ЗИННЕР [2], О. В. ДОРОГИНА [1]

[1] *Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, 630090 Россия, г. Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101*
* *elenazhmu@ngs.ru; olga-dorogina@yandex.ru*

[2] *Сибирский ботанический сад Томского государственного университета, 634050 Россия, г. Томск, проспект Ленина, 36*
zinner@inbox.ru

E. V. ZHMUD [1]*, N. S. ZINNER [2], O. V. DOROGINA [1]

[1] *Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the RAS, 101 Zolotodolinskaya St., Novosibirsk 630090, Russia*
* *elenazhmu@ngs.ru; olga-dorogina@yandex.ru*

[2] *Siberian Botanical Garden of Tomsk State University, 36 Lenin Ave., Tomsk 634050, Russia*
zinner@inbox.ru;

Актуальность. Трипсинингибирующая активность (ТИА) – это один из факторов иммунитета у растений, который обеспечивает наличие общей неспецифической системной устойчивости. Представители рода *Hedysarum* L. – перспективные лекарственные и высокобелковые кормовые растения с высокой ТИА в листьях. Высокие значения ТИА в надземной части растений приводят к снижению усвоения белка животными, поэтому выявление дифференциации особенностей сезонной динамики ТИА позволит наиболее эффективно использовать потенциал этих видов в условиях юга Сибири. **Материалы и методы.** ТИА в листьях изучена у зрелых генеративных растений редкого для Сибири вида *Hedysarum theinum* Krasnob. и устойчивого в лесостепи Западной Сибири *H. flavescens* Regel & Schmalh. Исследования в 2010 г. проведены у *H. theinum* в природных условиях (Республика Алтай) и в культуре (лесная зона Западной Сибири). В 2017 г. – у *H. theinum* и *H. flavescens* в культуре в лесостепи Западной Сибири. Метод основан на спектрофотометрическом измерении величины оптической плотности продуктов распада белкового субстрата (БАПА) под действием трипсина (при 405 нм). В качестве субстрата для определения ТИА использован БАПА (N^{a}-бензоил-DL-аргинин-п-нитроанилид) и бычий трипсин производства ISN-Biomedical (USA). **Заключение.** Максимальными средними для выборки значениями ТИА в фазе цветения характеризовались растения *H. theinum* в Республике Алтай и *H. flavescens*, произраставшие в относительно благоприятных условиях в лесостепи Западной Сибири. В лесной зоне Западной Сибири у *H. theinum* ТИА при цветении не увеличивалась, а в лесостепной снижалась, что позволяет рекомендовать эти образцы для практического использования в данной фазе сезонного развития.

Ключевые слова: *Hedysarum theinum* Krasnob., *H. flavescens* Regel & Schmalh., вегетационный период, изменчивость, Республика Алтай, лесная и лесостепная зоны Западной Сибири.

Background. Trypsin-inhibiting activity (TIA) is one of the factors of plant immunity. This factor provides the presence of general non-specific systemic resistance. Representatives of the genus *Hedysarum* L. are promising medicinal and high-protein fodder plants with high TIA in the leaves. High TIA values in the aboveground part of plants lead to a decrease in protein assimilation by animals. Therefore, identifying the differentiation in the features of TIA seasonal dynamics will make it possible to use the potential of these species most effectively under the conditions of Southern Siberia. **Materials and methods.** TIA in the leaves of mature generative plants of *Hedysarum theinum* Krasnob. and *H. flavescens* Regel & Schmalh. was analyzed. *H. theinum* is a rare species for Siberia; *H. flavescens* is a settled one in the forest-steppe zone of Western Siberia. The studies were conducted with *H. theinum* in 2010 under natural conditions (Altai Republic) and in cultivation (forest zone of Western Siberia). In 2017, *H. theinum* and *H. flavescens* were studied under cultivation in the forest-steppe zone of Western Siberia. The research method was based on the spectrophotometric measurement of the optical density in protein substrate (BAPA) decomposition products under the effect of trypsin (at 405 nm). Bovine trypsin manufactured by ISN-Biomedical (USA) was used. BAPA (N^{a}-benzoyl-DL-arginine-p-nitroanilide) served as a substrate. **Conclusions.** The TIA values in the flowering phase of seasonal plant development reached their maximum only under favorable conditions: in Altai Republic for the leaves of *H. theinum*, and in the forest-steppe zone of Western Siberia for *H. flavescens*. TIA values in *H. theinum* did not increase during flowering in the forest zone of Western Siberia and significantly decreased in the forest steppe. In view of these findings, these two species may be recommended for practical utilization in this phase of seasonal development.

Key words: *Hedysarum theinum* Krasnob., *H. flavescens* L., phenological phases of development, variability, various climatic conditions.

Введение

В листьях покрытосеменных растений вырабатываются ингибиторы протеаз (ИП), функцией которых является химическая защита от повреждений и патогенов. К ним относятся PR-6 белки (pathogenesis-related proteins), или ингибиторы трипсина (ИТ) (Trifonova et al., 2007). Экспрессия генов, связанных с синтезом ИТ, вызывает повышение неспецифической системной устойчивости растений к стрессовым факторам среды различной природы, что свидетельствует об их адаптивной функции (Valueva, Mosolov, 2002; Rai et al., 2006). ИТ обладают инсектицидными, противогрибковыми, противомикробными и противоопухолевыми свойствами, но изучены в основном в запасающих органах у культурных покрытосеменных растений (Gomes, 2011; Patriota et al., 2016; Shamsi et al., 2017). Потенциал для использования естественных ингибиторов протеаз огромен, но необходимы более масштабные исследования (Srikanth, Chen, 2016).

Наши исследования показали, что для сибирских представителей рода *Hedysarum* L. характерны высокие значения и широкий диапазон изменчивости ТИА в листьях, что было выявлено в средних образцах (Ermakov, 1987), то есть в смеси высушенных листьев в эквивалентных количествах с 10 особей в пределах одной и той же популяции (Dorogina, Zhmud, 2010; Zhmud, Zinner, 2011). *H. theinum* Krasnob. – это модельный вид для изучения ТИА (Zhmud et al., 2019). Изучен в природных условиях в Республике Алтай и культивируется в лесной и лесостепной зонах Западной Сибири, где способен к самоподдержанию в течение длительного времени – до 20 лет без пересева на одном месте (Sviridova, Zinner, 2007; Karnaukhova, Syeva, 2012). В надземной части *H. theinum* содержится комплекс биологически активных веществ, в том числе флавоноидов, и мангиферин, обладающий противовирусной активностью, благодаря которому вид может быть использован в лекарственных целях и в качестве кормовой добавки, так как обладает Р-витаминной активностью. Высокая ТИА в листьях может обладать антипитательным действием в организме человека и животных, вследствие чего надземную часть целесообразно рекомендовать для использования при снижении ТИА в растениях в процессе сезонного развития побегов. *Цель работы* – сравнительное исследование индивидуальной изменчивости ТИА у редкого для Сибири вида *H. theinum* и устойчивого в лесостепи Западной Сибири *H. flavescens* Regel & Schmalh. в течение вегетационного периода.

Материалы и методы

Динамика ТИА изучена в трех популяциях *H. theinum* в листьях у индивидуальных зрелых особей (табл. 1). В 2010 г. – в двух популяциях, по 5 экземпляров (экз.). У особей образца № 1 – в природных условиях Республики Алтай (Усть-Коксинский район, окр. с Кайтанак), а у образца № 2 в культуре исследованы маркированные (пронумерованные) особи *H. theinum* в лесной зоне Западной Сибири (Сибирский ботанический сад Томского государственного университета (СибБС ТГУ), г. Томск). Образец № 3 этого вида (10 экз.) изучен в лесостепной зоне Западной Сибири (Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения Российской академии наук (ЦСБС СО РАН), г. Новосибирск, 2017 г.). Образец № 4 (*H. flavescens*, 10 экз.) изучен также в 2017 г. там же.

В 2010 г. растения изучены в трех фазах сезонного развития – «бутонизация», «цветение» и «плодоношение», а в 2017 г. – в четырех, включая фазу «начало вегетации» (см. табл. 1). Уходные работы в культуре заключались в проведении прополки. Климатическая характеристика районов исследования приведена по данным мониторинга (Weather and Climate…, 2004-2020).

Значения ТИА выражены в миллиграммах бычьего трипсина, связанного ингибитором, на 1 г воздушно-сухой муки (влажность 6%) (мг/г сухого веса, далее мг/г) по методу Y. Y. Gofman, I. M. Vajsblaj (1975). Исследование видов *Hedysarum* показало статистически значимое сохранение ТИА в сухом веществе при высушивании материала в лабораторных условиях (Zhmud et al., 2018). В качестве субстрата использован БАПА (N^a-бензоил-DL-аргинин-п-нитроанилид). Реактивы – производства ISN-Biomedical (USA). Метод для изучения ТИА в семенах бобовых растений (Ermakov, 1987) модифицирован нами для листьев и основан на спектрофотометрическом измерении оптической плотности продуктов распада БАПА под действием трипсина (при 405 нм). В качестве буфера использован 0,05 М трис-HCL-0,02 М $CaCl_2$ (pH = 7,7). ТИА считали низкой при значениях < 25 мг/г, высокой – при

Таблица 1. Происхождение двух видов рода *Hedysarum* L., сроки сбора материала

Table 1. Origin of the two species of the genus *Hedysarum* L. and the timing of material collection

Вид	Район и даты сбора материала, фазы развития растений, абсолютная высота	Происхождение семян, срок посева (в культуре)
Hedysarum theinum	Республика Алтай, 2010 г.: 24.06. – «бутонизация» и «цветение»; 10.08. – «плодоношение»; 1900 м	Усть-Коксинский район, окрестности села Кайтанак
H. theinum	СибБС ТГУ; 2010 г.: 15.06. – «бутонизация»; 26.06. – «цветение»; 13.07. – «плодоношение». 2005 г.; 280 м	Республика Казахстан, хребет Проходной, 1700 м. Посев 2005 г. в СибБС ТГУ
H. theinum	ЦСБС СО РАН; 2017 г.: 10.05. – «начало вегетации»; 7.06. – «бутонизация»; 14.06. – «цветение»; 17.07. – «плодоношение»; 180 м	РА, Усть-Коксинский район, окрестности с. Кайтанак; 1900 м, 2000 г.
H. flavescens	ЦСБС СО РАН; 2017 г.: 10.05. – «начало вегетации»; 7.06. – «бутонизация»; 14.06. – «цветение»; 17.07. – «плодоношение»; 180 м	г. Омск, семена получены по делектусу в 1976 г; посев 2000 г. семенами репродукции ЦСБС СО РАН

Примечание: полное название ботанических садов приведено выше
Note: For the full names of the botanical gardens, see above

≥ 25 мг/г. Для статистической обработки и визуализации данных использованы пакеты программ StatSoft STATISTICA 6.0 и EXCEL. Достоверность различий средних значений для выборок проверена по непараметрическому критерию *U-test* (P = 95%) (Mann, Whitney, 1947).

Результаты и обсуждение

H. theinum и *H. flavescens* – длиннопобеговые поликарпические стержнекорневые моноцентрические растения. *H. theinum* в природных условиях характеризуется как устойчивый вид. В изученной популяции в Республике Алтай он обладал высокими значениями биоморфологических показателей и семенной продуктивности (Karnaukhova, Syeva, 2012). В природных условиях в 2010 г. у *H. theinum* (образец № 1) выявлена высокая ТИА и отмечены максимальные средние для выборки значения признака в фазе цветения, по сравнению с фазами бутонизации и плодоношения (рис. 1a) (P = 95%). *H. theinum* – устойчивый в культуре в Западной Сибири вид, который может существовать до 20 лет на одном и том же месте. Вид засухоустойчив, зимостоек и за время наблюдений не повреждался болезнями и вредителями. В лесной зоне Западной Сибири самосев отсутствовал, плодоношение было не ежегодным, а завязываемость семян – относительно невысокой (до 33%) (Sviridova, Zinner, 2007). В 2010 г. у *H. theinum* в лесной зоне Западной Сибири (образец № 2) выявлены также высокие средние значения ТИА, не имевшие достоверных сезонных отличий (см. рис. 1a). Общей тенденцией у большинства изученных особей этого образца явились высокие значения признака в фазе бутонизации растений, достигавшие 45–55 мг/г, затем их понижение в фазе цветения до 20–23 мг/г и их последующее восстановление в фазе плодоношения до высоких значений (35–50 мг/г) (особи № 1, № 2, № 3). Тенденцию нарушали особи № 4 и № 5. У особи № 4 ТИА плавно снижалась от фазы бутонизации к фазе плодоношения в 1,6 раза. У особи № 5 – увеличивалась в 2,3 раза в фазе плодоношения (рис. 1b). Дифференциация особей по данному признаку может служить основанием для отбора форм в интродукционной популяции.

В лесостепной зоне Западной Сибири интродукция *H. theinum* затруднена в несколько большей степени, чем в лесной. Согласно литературным данным, «Посевы семян в открытый грунт не давали положительных результатов. Создание интродукционной популяции этого вида возможно только рассадным методом после выбраковки около 90% нежизнеспособных растений на стадии проращивания семян и пересадки подросших растений в открытый грунт» (Karnaukhova, Syeva, 2012, p. 148). У *H. theinum* в культуре (образец № 3) в 2017 г. выявлены низкие средние значения ТИА в течение всего периода вегетации, минимальные – в фазе цветения (P = 95%) (рис. 2a). Динамика ТИА у отдельных особей в данном случае практически единообразна и характеризовалась снижением значений в фазе цветения и увеличением значений признака у каждой из 10 изученных особей в фазе плодоношения (рис. 2b). У трех особей ТИА в фазе плодоношения достигала более высоких значений, чем в трех предыдущих фазах сезонного развития.

H. flavescens – устойчивый в культуре в лесостепи Западной Сибири вид, особи которого ежегодно цвели и плодоносили с образованием жизнеспособных семян. Адаптация этого вида в ЦСБС СО РАН происходила при смене трех поколений. В 2017 г. в начальных фазах развития выявлена высокая ТИА в листьях и ее средние значения снижались только в фазе плодоношения (P = 95%) (рис. 2c). Изучение этого признака в средних образцах листьев может искажать активность данной группы веществ в сторону завышения значений, так как в смеси из листьев разных особей преобладающий вклад в активность принадлежит особям с более высокими значениями признака, а у особей с низкими зна-

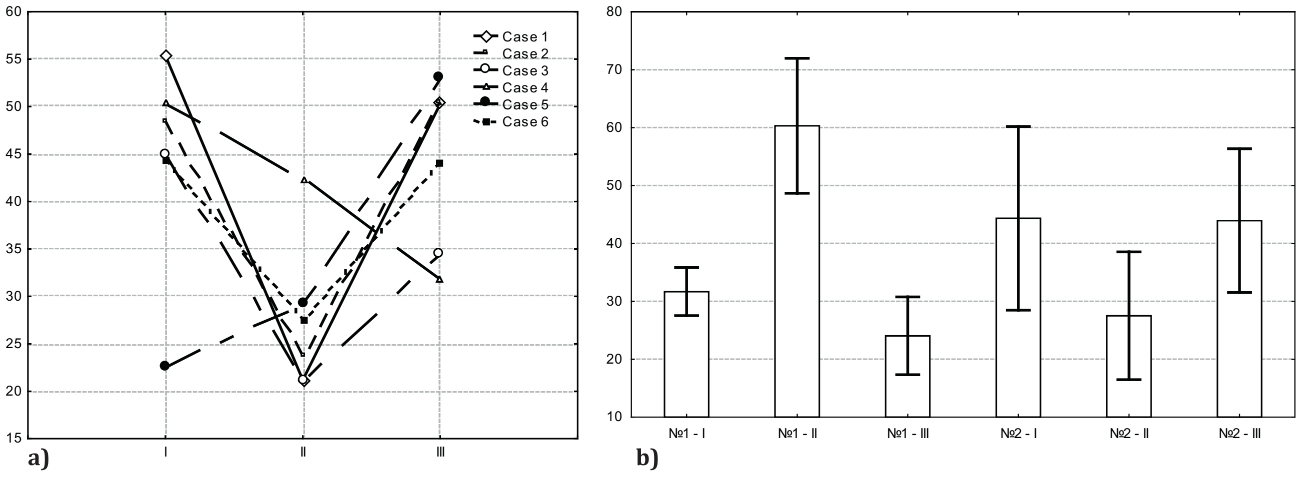


Рис. 1. ТИА в листьях у растений *Hedysarum theinum* в 2010 г.:
a) в Республике Алтай (образец № 1) и в лесной зоне Западной Сибири (образец № 2); **b)** ТИА у маркированных особей в лесной зоне Западной Сибири (образец № 2, особи № 1 – № 5 и среднее [case 6]).
По оси ординат – средние значения ТИА (мг/г) с 95% доверительным интервалом; по оси абсцисс – номер образца и фазы сезонного развития: **I** – «бутонизация»; **II –** «цветение»; **III –** «плодоношение»

Fig. 1. TIA values in the leaves of *Hedysarum theinum* plants in different phases of seasonal development, 2010:
a) under natural conditions (Altai Republic) (sample No. 1) and under cultivation in the forest zone of Western Siberia (sample No. 2); **b)** TIA in labeled individuals in the forest zone of Western Siberia (sample No. 2, individuals [cases] No. 1 – No. 5, and the average [case 6]).
The Y-axis shows average TIA values (mg/g) with a 95% confidence interval; the X-axis contains the sample number and phases of seasonal development: **I –** budding; **II** – flowering; **III** – fruiting

чениями этот вклад нивелируется. Поэтому достоверную картину структуры интродукционной популяции по данному признаку можно получить лишь при исследовании образцов листьев у индивидуальных маркированных особей. ТИА у особей этого вида отличалась более неоднородной динамикой, по сравнению с одновозрастными особями *H. theinum*. У особей № 2 и № 7 ТИА увеличивалась в фазе бутонизации, у № 1, № 3, № 8 – в фазе цветения, у особи № 6 наблюдалось плавное, а у особей № 4 и № 5 скачкообразное снижение значений признака от начала весенней вегетации (отрастания) до плодоношения (рис. 2d). То есть у большинства особей *H. flavescens* (62,5%) ТИА несколько снижалась в фазе цветения, но, в отличие от *H. theinum*, в фазе плодоношения увеличения значений признака в листьях у изученных особей этого вида нами не выявлено.

ношения (образцы № 1 и № 4); б) отсутствие достоверных отличий в разных фазах сезонного развития (образец № 2); в) минимальные значения в фазе цветения (образец № 3).

Дифференциация сезонной динамики ТИА у *H. theinum* может быть обусловлена, в частности, различиями климатических условий в местах произрастания вида, так как климат в районах интродукции характеризуется как более континентальный и теплый (табл. 2), чем в пределах естественного ареала (Weather and Climate…, 2004–2020).

Согласно литературным данным, уровень значений ТИА в надземной части может служить критерием для оценки состояния иммунитета растений, так как поддержание высокой активности этой группы веществ энергетически затратно (Zavala et al., 2004). Первый вариант СД наблюдался у хорошо адаптированных видов:

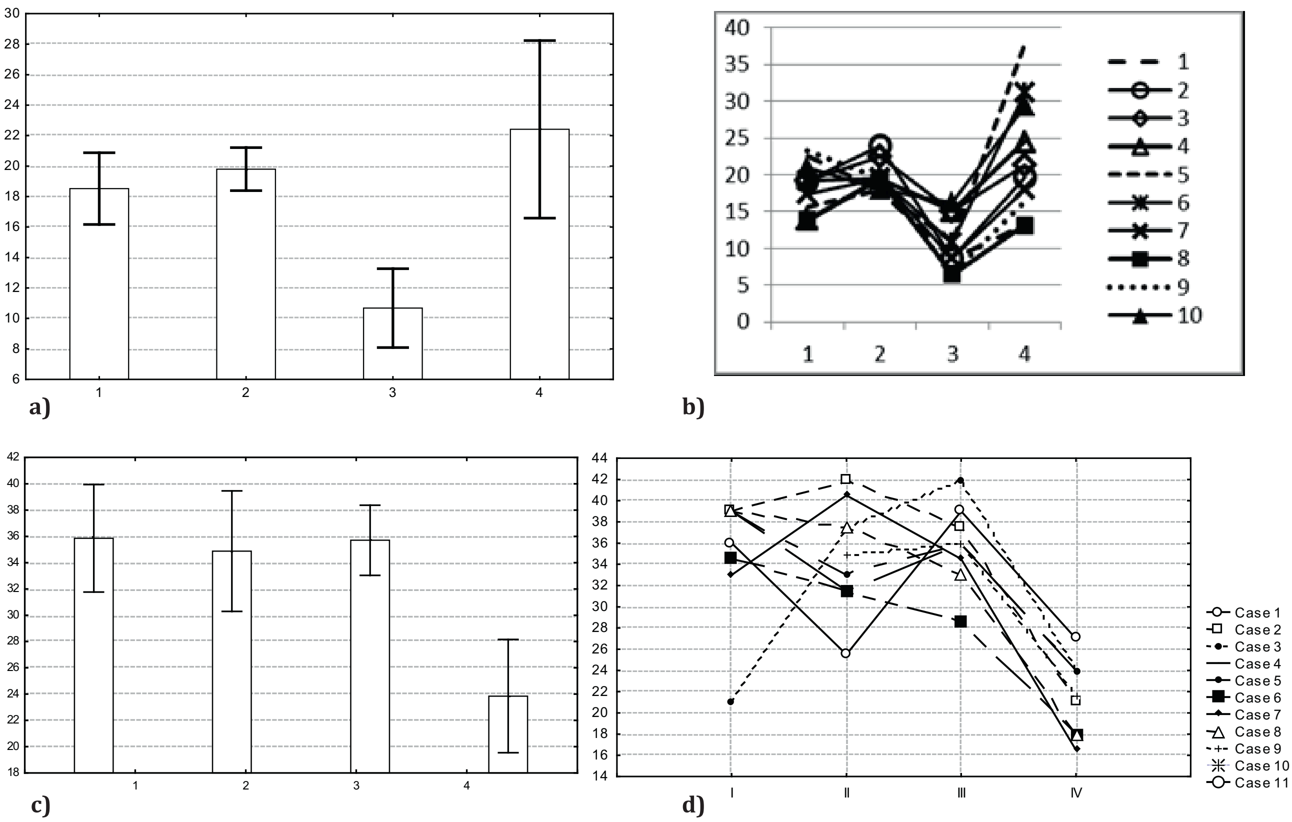


Рис. 2. ТИА у *Hedysarum theinum* и *Hedysarum flavescens* в 2017 г. в лесостепной зоне Западной Сибири:
a) средние для выборки значения (образец № 3); **b)** динамика значений у маркированных особей (образец № 3, особи № 1 – № 10); **c)** средние для выборки значения (образец № 4); **d)** динамика значений ТИА у маркированных особей (образец № 4, особи № 1 – № 10, среднее № 11).
Обозначения: по оси ординат – ТИА (мг/г), с 95% доверительным интервалом; по оси абсцисс – фазы сезонного развития: **1** – «начало вегетации»; **2** – «бутонизация»; **3** – «цветение»; **4** – «плодоношение»

Fig. 2. TIA in *Hedysarum theinum* and *Hedysarum flavescens* in 2017 in the forest-steppe zone of Western Siberia:
a) average values for sample No. 3; **b)** the dynamics of the values in labeled individuals for sample No. 3 (individuals [cases] No. 1 – No.10); **c)** average values for sample No. 4; **d)** the dynamics of the values in labeled individuals (sample No. 4, individuals [cases] No. 1 – No. 10, and the average [case No. 11]).
The Y-axis shows TIA values (mg/g); the X-axis shows the phases of seasonal development: **1** – beginning of growing season; **2** – budding; **3** – flowering; **4** – fruiting

Таким образом, у одновозрастных зрелых особей *H. theinum* и *H. flavescens* в лесостепной зоне Западной Сибири отмечена качественно разная сезонная динамика (СД) ТИА, а у представителей из четырех изученных выборок отмечены три ее варианта: а) высокие значения в фазе цветения и их снижение в фазе плодоношения

у *H. theinum* в естественных условиях и у *H. flavescens* в лесостепи Западной Сибири. Адаптация в природных условиях не ограничена во времени и носит эволюционный характер (Zhuchenko, 2004), что способствует успешной жизнедеятельности *H. theinum* в естественных условиях. *H. flavescens* интродуцирован из южной

Таблица 2. Климатические показатели районов исследования
Table 2. Climate indicators in the studied areas

Климатические показатели	Республика Алтай, Усть-Кокса	Томск	Новосибирск
Среднегодовая температура, °С	–0,03	0,9	1,7
Среднегодовой минимум, °С	–5,84	–3.5	–3,1
Абсолютный минимум, °С	–37,70	–55	–46,3

лесостепи Западной Сибири, с близким к местному климатом, выращивался в ЦСБС СО РАН более 40 лет и регулярно пересевался семенами собственной репродукции. Максимальные средние значения ТИА у этих видов в фазе цветения, вероятно, могут отражать адаптированность к местным климатическим условиям. Увеличение активности ИТ в этот критический период сезонного развития особей обусловлено естественной деградацией биополимеров для усиления защитной функции. Впоследствии в стареющих листьях происходит демонтаж клеточных структур и перенос питательных веществ в запасающие органы будущих генеративных структур (Diaz-Mendoza et al., 2016). Снижение ТИА в листьях в фазе плодоношения у адаптированных к местным условиям особей связано с утратой защитной функции ИТ и их трансформацией в конце сезонного развития побегов в запасные белки семян (Bhattacherjee et al., 2012).

Тем не менее изменения ТИА у вида *H. theinum* в течение периода вегетации обратимы и могут трактоваться как «акклиматизация», или «физиологические корректировки» (Körner, 2016), о чем свидетельствуют обнаруженные нами второй и третий варианты СД ТИА у особей этого вида в лесной и лесостепной зонах Западной Сибири. Отсутствие увеличения или уменьшение значений ТИА у *H. theinum* во время цветения в культуре свидетельствует об определенном снижении защитных сил растений. Повышение ТИА в фазе плодоношения в культуре, по сравнению с природными условиями, может быть обусловлено замедлением трансформации ИТ из листьев в запасные белки семян из-за более высокой температуры окружающей среды в конце вегетационного периода в новых условиях произрастания. Относительно теплая погода в период плодоношения нехарактерна для естественных горных местообитаний вида, где в это время нередки заморозки.

Заключение

У поликарпических дикорастущих видов семейства Asteraceae (Compositae) с отмирающей в конце периода вегетации надземной частью в природных условиях также выявлена тенденция к увеличению значений ТИА в фазе цветения (Ivanov, Domash, 2010), что согласуется с нашими результатами у дикорастущих представителей рода *Hedysarum*, так как более высокие значения ТИА в листьях в фазе цветения и их снижение в фазе плодоношения выявлены у *H. theinum* в естественных условиях. У большинства особей этого вида в культуре значения ТИА в фазе плодоношения снижались, что способствует улучшению их питательных свойств и позволяет рекомендовать для практического использования.

Благодарности

Работа выполнена в рамках государственного задания Центрального сибирского ботанического сада СО РАН «Оценка морфогенетического потенциала популяций растений Северной Азии экспериментальными методами»; номер государственной регистрации проекта: АААА-А17-117012610051-5. При подготовке публикации использованы материалы биоресурсной научной коллекции ЦСБС СО РАН «Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте», УНУ № USU 44053.

The research was implemented within the framework of the State Task to the Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences: "Assessment of the morphogenetic potential of plant populations in North Asia by experimental methods." State registration number of the Project: AAAA-A17-117012610051-5. The publication was prepared on the basis of materials held in the bioresource research collection of the Central Siberian Botanical Garden "Collections of Live Plants Growing Outdoors and Indoors", Unique Scientific Unit No. USU 440534.

References/Литература

Bhattacherjee C., Doddananjappa T.P., Manjunath N.H., Sanyal D., Zarga S.M. Exploring plant proteinase inhibitors. *Genomics and Applied Biology*. 2012;3(2):8-21. DOI: 10.3969/gab.2012.03.0002

Diaz-Mendoza M., Velasco-Arroyo B., Santamaria M.E., González-Melendi P., Martinez M., Diaz I. Plant senescence and proteolysis: two processes with one density. *Genetics and Molecular Biology*. 2016;39(3):329-338. DOI: 10.1590/1678-4685-gmb-2016-0015

Dorogina O.V., Zhmud E.V. Trypsin inhibitor activity in leaves of fodder leguminous plants. *Siberian Herald of Agricultural Science*. 2010;10:23-28. [in Russian] (Дорогина О.В., Жмудь Е.В. Трипсинингибирующая активность в листьях кормовых бобовых растений. *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2010;10:23-28).

Ermakov A.I. (ed.). Methods of biochemical research on plants (Metody biokhimicheskogo issledovaniya rasteniy). Leningrad; 1987. [in Russian] (Методы биохимического исследования растений / под. ред. А.И. Ермакова. Ленинград; 1987).

Gofman Y.Y., Vajsblaj I.M. Determination of the trypsin inhibitor in pea seeds (Opredeleniye ingibitora tripsina v semenakh gorokha). *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya = Applied Biochemistry and Microbiology*. 1975;11(5):777-783. [in Russian] (Гофман Ю.Я., Вайсблай И.М. Определение ингибитора трипсина в семенах гороха. *Прикладная биохимия и микробиология.* 1975;11(5):777-783).

Gomes M.T., Oliva M.L., Lopes M.T., Salas C.E. Plant proteinases and inhibitors: An overview of biological function and pharmacological activity. *Current Protein and Peptide Science.* 2011;12(5):417-436. DOI: 10.2174/138920311796391089

Ivanov O.A., Domash V.I. Accumulation of serine proteinase inhibitors in different parts of wild species of the Compositae during growth and development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological Series*. 2010;4:11-15. [in Russian] (Иванов О.А., Домаш В.И. Накопление ингибиторов сериновых протеиназ в различных частях дикорастущих видов растений семейства Compositae в процессе роста и развития. *Известия НАН Беларуси. Серия биологических наук*. 2010;4:11-15).

Karnaukhova N.A., Syeva S.Ya. Experience of creation of artificial populations of *Hedysarum theinum* (Fabaceae). *Plant Life of Asian Russia*. 2012;2(10):142-149. [in Russian] (Карнаухова Н.А., Сыева С.Я. Опыт создания искусственных популяций *Hedysarum theinum* (Fabaceae). *Растительный мир Азиатской России*. 2012;2(10):142-149).

Körner C. Plant adaptation to cold climates [version 1; peer review: 2 approved]. F1000Research; 20016;5(F1000 Faculty Rev):2769. DOI: 10.12688/f1000research.9107.1

Mann H.B., Whitney D.R. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *Annals of Mathematical Statistics*. 1947;18(1):50-60. DOI: 10.1214/aoms/1177730491

Patriota L.L.S., Procópio T.F., de Souza M.F., de Oliveira A.P.S., Carvalho L.V.N., Pitta M.G.R. et al. A trypsin inhibitor from *Tecoma stans* leaves inhibits growth and promotes ATP depletion and lipid peroxidation in *Candida albicans* and *Candida krusei*. *Frontiers in Microbiology*. 2016;7:611. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00611 Corpus ID: 17272952

Rai S., Aggarwal K.K., Babu C.R. Influence of host plant (*Terminalia arjuna*) defences on the evolution of feeding behaviour in the tasar silkworm. *Current Science*. *Biology.* 2006;91(1):68-72.

Shamsi T.N., Parveen R., Sadaf F. Trypsin inhibitors demonstrate antioxidant activities, inhibit A549 cell proliferation, and increase activities of reactive oxygen species scavenging enzymes. *The Indian Journal of Pharmacology.* 2017;49(2):155-160. DOI: 10.4103/ijp.IJP_553_16

Srikanth S., Chen Z. Plant protease inhibitors in therapeutics – Focus on cancer therapy. *Frontiers in Pharmacology.* 2016;7:470. DOI: 10.3389/fphar.2016.00470

Sviridova T.P., Zinner N.S. Introduction of flavonoid-containing medicinal plants in the Siberian Botanical Garden of Tomsk State University. *Tomsk State University Journal of Biology*. 2007;305:211-214. [in Russian] (Свиридова Т.П., Зиннер Н.С. Интродукция флавоноидосодержащих лекарственных растений в Сибирском ботаническом саду Томского государственного университета. *Вестник Томского государственного университета*. *Биология*. 2007;305:211-214).

Trifonova E.A., Kochetov A.V., Shumnyi V.K. Molecular mechanisms of system resistance of plants to infections and strategy of raising virus resistance through transgenesis. *Advances in Current Biology*. 2007;127(1):13-24. [in Russian] (Трифонова Е.А., Кочетов А.В., Шумный В.К. Молекулярные механизмы системной устойчивости растений к вирусным инфекциям и способы повышения вирусоустойчивости путем трансгенеза. *Успехи современной биологии*. 2007;127(1):13-24).

Valueva T.A., Mosolov V.V. The role of proteolytic enzyme inhibitors in plant protection (Rol ingibitorov proteoliticheskikh fermentov v zashchite rasteniy). *Uspekhi biologicheskoy khimii = Advances in Biological Chemistry*. 2002;42:193-216. [in Russian] (Валуева Т.А., Мосолов В.В. Роль ингибиторов протеолитических ферментов в защите растений. *Успехи биологической химии*. 2002;42:193-216).

Weather and Climate. Reference and Information Portal (Pogoda i klimat. Spravochno-informatsionny portal). 2004-2020. [in Russian] (Погода и климат. Справочно-информационный портал. 2004-2020). URL: http://www.pogodaiklimat.ru/ [дата обращения: 02.04.2020].

Zavala J.A., Patankar A.G., Gase K., Baldwin I.T. Constitutive and inducible trypsin proteinase inhibitor production incurs large fitness costs in *Nicotiana attenuate. PNAS*. 2004;101(6):1607-1612. DOI: 10.1073/pnas.0305096101

Zhmud E.V., Kuban I.N., Achimova A.A., Yamtyrov M.B., Dorogina O.V. Influence of artificial defoliation on trypsin inhibitor activity in *Hedysarum theinum* (Fabaceae). *Plant Life of Asian Russia*. 2019;4(36):48-55. [in Russian] (Жмудь Е.В., Кубан И.Н., Ачимова А.А., Ямтыров М.Б., Дорогина О.В. Влияние искусственной дефолиации на активность ингибиторов трипсина у *Hedysarum theinum* (Fabaceae). *Растительный мир Азиатской России*. 2019; 4(36): 48-55).

Zhmud E., Kuban I., Emtseva M. Dorogina O. Comparative analysis of trypsin inhibitor activity in the wet and dry weight of leaves in representatives of *Hedysarum* L. In: *The Foreststeppe of Western Siberia. BIO Web Conf. 2018; Vol. 11. IV(VI). All-Russia Scientific–Practical Conference "Prospects of Development and Challenges of Modern Botany"*. Novosibirsk; 2018. p.1-4. DOI: 10.1051/bioconf/20181100052

Zhuchenko A.A. Ecological genetics of cultivated plants and problems of the agrosphere (theory and practice). Vol. 1. Moscow: Agrorus; 2004. [in Russian] (Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений и проблемы агросферы (теория и практика). Т. 1. Москва: Агрорус; 2004).

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

Жмудь Е.В., Зиннер Н.С., Дорогина О.В. Поливариантность сезонной динамики активности ингибиторов трипсина у двух видов рода *Hedysarum* (Fabaceae) в условиях юга Сибири. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(3):25-31. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-25-31

Zhmud E.V., Zinner N.S., Dorogina O.V. Trypsin inhibitor activity in representatives of the genus *Hedysarum* (Fabaceae): the polyvariance of seasonal dynamics in Southern Siberia. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(3):25-31. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-25-31

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/10.30901/2227-8834-2020-3-25-31

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
Zhmud E.V. https://orcid.org/0000-0001-5534-7691
Zinner N.S. https://orcid.org/0000-0003-0363-0684
Dorogina O.V. https://orcid.org/0000-0001-5729-3594

Сопряженность морфологических признаков с устойчивостью к полеганию ярового ячменя в условиях Волго-Вятского региона

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-32-40
УДК 633.16:526.32 581.4:58.01/.07
Поступление/Received: 14.02.2020
Принято/Accepted: 21.09.2020

Association of morphological traits with lodging resistance in spring barley under the conditions of the Volga-Vyatka region

И. Ю. ЗАЙЦЕВА [1]*, И. Н. ЩЕННИКОВА [1, 2]

[1] *Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого, 610007 Россия, г. Киров, ул. Ленина, 166а*
** irina-zajjceva30@rambler.ru*

[2] *Вятская государственная сельскохозяйственная академия, 610017 Россия, г. Киров, Октябрьский проспект, 133*
i.schennikova@mail.ru

I. YU. ZAYTSEVA [1]*, I. N. SHCHENNIKOVA [1, 2]

[1] *N.V. Rudnitsky Federal Agricultural Science Center of the North-East, 166a Lenina St., Kirov 610007, Russia*
** irina-zajjceva30@rambler.ru*

[2] *Vyatka State Agricultural Academy, 133 Oktyabrsky Ave, Kirov 610017, Russia*
i.schennikova@mail.ru

Актуальность. Полегание крайне отрицательно сказывается на урожайности ячменя, ухудшаются качество зерна и посевные свойства семян, увеличивается поражаемость растений заболеваниями и затрудняется механизированная уборка, поэтому необходим поиск новых исходных форм ячменя, устойчивых к полеганию, для вовлечения их в дальнейшие скрещивания и создание неполегающих сортов. **Объект и методы.** Экспериментальная работа проводилась в 2018–2019 гг. в ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока (г. Киров). В ходе исследований была проведена оценка по устойчивости к полеганию и элементам структуры урожайности 29 коллекционных образцов. Изучение коллекции проводили в соответствии с Международным классификатором СЭВ и Методическими рекомендациями по изучению и сохранению мировой коллекции ячменя и овса. **Результаты и выводы.** Установлена сильная корреляция устойчивости растений к полеганию с урожайностью (r = 0,72) и высотой растений (r = –0,60), средняя – с кустистостью (r = 0,40) и числом узловых корней при созревании (r = 0,44). Не обнаружена связь между устойчивостью к полеганию и морфологическими особенностями второго нижнего междоузлия, следовательно, отбор неполегающих форм по этим критериям неэффективен. Устойчивые к полеганию образцы имели большую урожайность, кустистость, продуктивность, массу 1000 зерен, более длинный и плотный колос по сравнению с неустойчивыми образцами. Для дальнейшей селекционной работы выделены образцы, сочетающие высокую урожайность с устойчивостью к полеганию и рядом селекционно ценных признаков: ‘Белгородский 100’, ‘Наран’ (к-30892), ‘Казьминский’ (к-30926), ‘Щедрый’ (к-31046) (Россия); ‘Сябра’ (к-29917), ‘Рейдер’ (Белоруссия); ‘Одесский 115’ (к-29010, Украина); ‘Mie’ (к-30379, Эстония); ‘Rodos’ (к-30256, Польша).

Ключевые слова: коллекция, образец, урожайность, кустистость, корни, междоузлия.

Background. Lodging has an extremely negative impact on barley yield: grain quality and planting properties are deteriorated, disease incidence increases, and mechanized harvesting becomes difficult, so it is important to find new sources of lodging resistance in barley and use them in crosses and breeding programs to develop non-lodging barley cultivars. **Materials and methods**. Experimental work was carried out in 2018 and 2019 at Federal Agricultural Science Center of the North-East (FASC North-East), Kirov. Yield structure components and lodging resistance levels were assessed for 29 accessions from the spring barley collection. The study was based on the International COMECON List of Descriptors for the Genus *Hordeum* L. (subgen. *Hordeum*) and Methodological Guidelines for the Study and Preservation of the World Collection of Barley and Oats. **Results and conclusions**. Lodging resistance was observed to have a strong correlation with yield (r = 0.72) and plant height (r = –0.60), and a medium correlation with tillering (r = 0.40) and number of nodal roots at maturation (r = 0.44). No relationship was found between lodging resistance and morphological features of the second lowest internode, which means that selection of non-lodging forms by these criteria will not be effective. Lodging-resistant accessions demonstrated higher yield, tillering, productivity, 1000 grain weight, and a longer and denser ear compared to non-resistant accessions. Accessions combining high yield with lodging resistance and a set of traits promising for breeding were identified: ‘Belgorodsky 100’, ‘Naran’ (k-30892), ‘Kazminsky’ (k-30926), ‘Shchedry’ (k-31046) (Russia); ‘Syabra’ (k-30917), ‘Raider’ (Belarus); ‘Odesssky 115’ (k-29010, Ukraine), ‘Mie’ (k-30379, Estonia), ‘Rodos’ (k-30256, Poland).

Key words: collection, accession, yield, tillering, roots, internodes.

Введение

Одним из наиболее актуальных вопросов в селекции сельскохозяйственных культур, в том числе и ячменя, является увеличение урожайности. Многие сорта ячменя, возделываемые на территории Российской Федерации и, в частности, в Кировской области подвержены полеганию. В условиях длинного светового дня устойчивость растений к полеганию становится одним из факторов для дальнейшего повышения урожайности (Ivanova et al., 2016; Rodina, 2006). Устойчивость к полеганию не только является одним из важнейших факторов, обеспечивающих получение высоких урожаев, но и существенно влияет на качество продукции.

Различают стеблевое и корневое полегание, которые распознаются по внешним проявлениям. Стеблевое полегание наблюдается в условиях избыточного увлажнения на богатых азотом почвах, когда стебли не выдерживают нагрузки и искривляются (Shchennikova et al., 2011), а также в засушливых условиях, при завядании растений вследствие слабого тургора клеток. Прикорневое полегание происходит в случае слабой прочности корней или их плохого сцепления с почвой. Оно наблюдается в условиях орошения или когда посев семян производится в неосевшую почву. Кроме того, прикорневое полегание происходит при развитии заболеваний корней и прикорневой части ячменя – корневых гнилей, вызываемых комплексом видов гемибиотрофных грибов (*Fusarium* L., *Cercosporella herpotrichoides* (Fron) Deighton и другими) (Tikhvinsky et al., 2007).

На полегание растений влияет множество различных факторов. К ним относятся генотипические особенности растений, вызывающие индивидуальность анатомо-морфологического строения, а также условия произрастания сорта, например неустойчивое увлажнение, избыток азота в почве, сильное загущение посевов, предшественники и т. д. Полегание усиливается с повышением густоты стояния растений, облиственности и кустистости, а также с увеличением интенсивности освещения, которое является определяющим при формировании длины междоузлий (Griguletsky, 2019).

Вероятность полегания существует с момента выхода растений в трубку и сохраняется до полной спелости. Оно тем опаснее, чем в более ранней стадии проявляется. Если оно происходит в ранние сроки, то в колосе у ячменя завязывается мало зерен, а в более поздний период формируется щуплое зерно. Максимальное снижение урожайности отмечается, если сорт полегает в период налива зерна. В более поздние фазы развития полегание посевов не так вредоносно, а в фазе восковой спелости может практически не повлиять на урожайность. Однако из-за потерь, которые возникают в результате затрудненной механизированной уборки полегших посевов, величина фактически убранного урожая бывает намного меньше (Kovrigina, Zaushintsena, 2012).

Известно, что на полегших посевах интенсивно развиваются болезни, что ведет к уменьшению массы, снижению натуры и увеличению пленчатости зерна. Кроме того, полегание способствует прорастанию зерна на корню, что приводит к нарушению обменных процессов. В результате ухудшается качество зерна, снижаются посевные свойства семян, а урожайность сорта значительно падает (Repko et al., 2017). Потери урожая зерна от полегания составляют от 10 до 50%, поэтому особое внимание уделяется созданию, подбору и внедрению в производство устойчивых к полеганию сортов (Rodina, 2006).

Успех создания новых неполегающих сортов ячменя предопределен исходным материалом и зависит от его генетического разнообразия. Именно поэтому исходный материал должен быть представлен не только сортами, приспособленными к условиям конкретного региона, но и образцами мировой коллекции ВИР, также обладающими хозяйственно ценными признаками (Batalova, 2015; Rodina, 2006).

В связи с этим *целью нашего исследования* является изучение и подбор нового исходного материала для создания неполегающих, высокопродуктивных и высококачественных сортов ячменя, пригодных для эффективного использования в Кировской области.

Материал и методика

Экспериментальная работа проводилась в 2018 и 2019 г. в Федеральном аграрном научном центре Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого (ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока; г. Киров). В ходе исследований была проведена оценка по устойчивости к полеганию и элементам структуры урожайности 29 образцов ячменя (табл. 1), полученных в основном из коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР; Санкт-Петербург – 23 образца) и других научно-исследовательских селекционных учреждений.

Изучение коллекции проводили в соответствии с Международным классификатором СЭВ (Lekeš et al., 1983) и Методическими рекомендациями по изучению и сохранению мировой коллекции ячменя и овса (Loskutov et al., 2012) на делянках площадью 2,7 м^2 в трехкратной повторности. В качестве стандарта (St) использовали сорт ‘Белгородский 100’.

Погодные условия в годы проведения исследований можно охарактеризовать как неблагоприятные для роста и развития растений. Вегетационный период как в 2018, так и в 2019 г. отличался неустойчивой погодой. Она изменялась от прохладной до теплой, даже жаркой, но была преимущественно сухой или с небольшими, лишь в отдельные дни значительными осадками. Только в июне и июле 2018 г. наблюдались частые, местами сильные и очень сильные дожди.

В соответствии с методикой (Torop E.A. et al., 2011) в фазу молочно-восковой спелости у 10 растений каждого образца брали второе междоузлие главного стебля и определяли длину (см), толщину (мм) и массу целого междоузлия (г), взвешивая отрезок длиной 1 см.

Величину группового интервала для деления коллекционных образцов на группы по длине второго нижнего междоузлия определяли по формуле (Udovenko, 1988):

$$k = \frac{\mathrm{Xmax} - \mathrm{Xmin}}{\mathrm{r}},$$

где x_{max} – максимальное значение признака; x_{min} – минимальное значение признака; r – число групп.

Статистическую обработку данных выполняли методами дисперсионного, регрессионного и корреляционного анализов по методике Б. А. Доспехова (Dospekhov, 1985). Математический анализ материала осуществляли с использованием компьютерной программы Microsoft Office Excel и селекционно-генетической компьютерной программы AGROS 2.07.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований была обнаружена существенная корреляция урожайности изучаемого набора сортов с их устойчивостью к полеганию ($r = 0{,}72$). Регрессионный анализ (Dospekhov, 1985) показал, что урожайность образцов примерно на 51% ($R^2 = 0{,}5131$) зависела от их устойчивости к полеганию. Кроме того, установлено, что при увеличении устойчивости к полеганию на 1 балл урожайность повышалась на 0,46 т/га ($y = 0{,}4555x - 0{,}2977$).

Устойчивость растений к полеганию связывается с различными факторами; среди них: условия произрастания растений, высота стебля, кустистость, число узловых корней и мощность корневой системы, эластичность соломины, морфологические особенности второго нижнего междоузлия и анатомическое строение стебля.

Таблица 1. Сортимент изученных коллекционных образцов ячменя
(ФАНЦ Северо-Востока; г. Киров, 2018, 2019 г.)

Table 1. Assortment of the studied barley accessions
(FASC North-East, Kirov; 2018, 2019)

Номер по каталогу ВИР / VIR Catalogue No.	Сорт / Cultivar	Страна происхождения / Country of origin
–	Белгородский 100 (St)	Россия
30806	Новичок	Россия
–	Бионик	Россия
–	Crusades	Великобритания
30375	Cooper	Эстония
19798	Sultan	Нидерланды
30873	Ментор	Дания
30468	Orthega	Германия
30888	Данута	Германия
–	752A	Швейцария
30574	Filippa	Швеция
35415	Bonita	Аргентина
35415	NCK 95098	Аргентина
30349	Landrace	Перу
31053	Haxby	США
5983	Местный	Афганистан
3506	Местный	Индия
2929	Местный	Китай
2930	Местный	Китай
5210	Makbo	Австралия
29010	Одесский 115	Украина
30379	Mie	Эстония
29917	Сябра	Белоруссия
30256	Rodos	Польша
15619	Полярный 14	Россия
30892	Наран	Россия
30926	Казьминский	Россия
31046	Щедрый	Россия
–	Рейдер	Белоруссия

На основе анализа коллекционных образцов по данным признакам была установлена связь средней степени между устойчивостью к полеганию и следующими показателями: высотой растений (r = –0,60), общей кустистостью (r = 0,40) и вторичной корневой системой, формирующейся к фазе «созревание» (r = 0,44).

С помощью регрессионного анализа (Dospekhov, 1985) установлено, что изменение устойчивости к полеганию у данного набора сортов на 36% (R^2 = 0,363) зависело от изменения высоты растений, на 16% (R^2 = 0,158) от изменения общей кустистости и на 2% (R^2 = 0,196) от количества вторичных корней, сформировавшихся к фазе созревания. Снижение высоты растений на 4,2 см вело к увеличению устойчивости к полеганию у изученных сортов на 1 балл ($y = –4,1619x + 94,273$). Кроме того, устойчивость к полеганию повышалась на 1 балл с возрастанием продуктивной кустистости на 0,2 стебля ($y = 0,2184x + 0,2476$) или количества вторичных корней, сформировавшихся к фазе «созревание», на 1,2 шт. ($y = 1,1592x + 7,2224$).

В соответствии с J. Lekeš et al. (1983) все сорта были разделены по высоте растений на три условные группы:

- очень низкие (41–60 см),
- низкорослые (61–70 см),
- средненизкие (71–80 см).

Образцы в группе «очень низкие» отличались высокой устойчивостью к полеганию, средний балл составлял 8,8. В группах «низкорослые» и «средненизкие» различий практически не было и балл равнялся 7,5 и 7,4 соответственно. Однако следует отметить, что в эти группы вошли сорта с различной устойчивостью к полеганию. Например, относящиеся к группе «низкорослые» сорта ‘Новичок’ (к-30806; Россия), ‘Bonita’ (к-35417; Аргентина) и ‘NCK 95098’ (к-35415; Аргентина) имели устойчивость к полеганию 9 баллов, а сорт ‘Makbo’ (к-5210; Австралия) – 6,1 балла. К группе «средненизкие» были отнесены устойчивый к полеганию сорт ‘Наран’ (к-30892; Россия) и неустойчивый Местный (к-3506) из Индии (табл. 2).

Несмотря на то что устойчивость к полеганию в средней степени (r = 0,40) зависела от кустистости, не все неполегающие сорта характеризовались большим количеством стеблей. Так, устойчивые к полеганию сорта ‘Казьминский’ (к-30926; Россия) и ‘Рейдер’ (Белоруссия) обладали низкой кустистостью, равной 1,3 и 1,6 соответственно, а у склонного к полеганию Местного из Индии (к-3506) общая кустистость находилась на уровне устойчивого стандарта ‘Белгородский 100’ (Россия).

В наших исследованиях обнаружена взаимосвязь между числом узловых корней и полегаемостью, однако, как и в случаях с высотой и кустистостью растений, нельзя говорить, что устойчивыми к полеганию будут только те сорта, которые имеют более развитую корневую систему. Так, устойчивый к полеганию сорт ‘Казьминский’ (к-30926; Россия) имел количество корней аналогичное полегающему образцу ‘Landrace’ (к-30349; Перу).

Таким образом, можно заключить, что отбор по высоте, кустистости растений и количеству узловых корней не всегда бывает эффективен. Устойчивыми к полеганию могут оказаться высокостебельные сорта, а также сорта с низкой кустистостью или меньшим количеством вторичных корней, не уступающие по урожайности другим устойчивым к полеганию сортам, как, например, сорта ‘Новичок’ (к-30806; Россия), ‘Казьминский’ (к-30926; Россия) и ‘Рейдер’ (Белоруссия).

Многие исследователи объясняют устойчивость растений к полеганию морфологическими особенностями второго нижнего междоузлия, такими как его длина, диаметр и масса (Zaushintsena et al. 2008; Isamitdinov et al., 2009; Torop E.A. et al., 2011; Zakharov et al., 2014; Packa et al., 2015). Наиболее часто устойчивость к полеганию связывается с длиной второго нижнего междоузлия. Однако эта взаимосвязь не является надежным средством для отбора устойчивых к полеганию форм. После деления образцов на условные группы по длине второго нижнего междоузлия (табл. 3) выяснилось, что

Таблица 2. Зависимость устойчивости к полеганию от некоторых элементов структуры урожая (ФАНЦ Северо-Востока; г. Киров, 2018, 2019 г.)

Table 2. Dependence of lodging resistance on some components of yield structure (FASC North-East, Kirov; 2018, 2019)

Сорт / Cultivar	Устойчивость к полеганию, балл / Lodging resistance, score	Высота растения, см / Plant height, cm	Общая кустистость, шт./раст. / Total tillering, pcs/plant	Урожайность, т/га / Yield, t/ha	Количество вторичных корней в фазу «созревание», шт. / Number of secondary roots in the ripening phase, pcs
41 – 60 см / 41 – 60 cm					
Белгородский 100 / Belgorodsky 100	9,0	57,2	2,3	3,4	20,1
Бионик Bionic	9,0	58,6	2,3	3,0	14,9
Казьминский (к-30926) / Kazminsky	8,8	46,8	1,3	4,2	15,2
Рейдер / Raider	9,0	54,4	1,6	4,6	20,4
61 – 70 см / 61 – 70 cm					
Новичок (к-30806) / Novichok	9,0	62,9	2,0	4,3	21,1
Щедрый (к-31046) / Shchedry	8,1	60,5	1,9	4,7	14,3
Makbo (к-5210)	6,1	60,1	1,4	2,5	9,4
Landrace (к-30349)	6,5	62,7	1,3	2,2	15,1
71 – 80 см / 71 – 80 cm					
Наран (к-30892) / Naran	8,6	72,5	2,2	2,5	17,0
Полярный 14 (к-15619) / Polyarny 14	7,9	74,3	1,3	3,2	20,0
Местный (к-3506) / Local sample	5,8	76,7	2,0	2,5	16,8
$НСР_{05}$ / LSD_{05}	–	4,8	1,1	0,5	–

Таблица 3. Морфологические особенности второго нижнего междоузлия коллекционных образцов ячменя (ФАНЦ Северо-Востока; г. Киров, 2018, 2019 г.)

Table 3. Morphological features of the second lowest internode in barley accessions (FASC North-East, Kirov; 2018, 2019)

Сорт / Cultivar	Устойчивость к полеганию, балл / Lodging resistance, score	Длина 2-го нижнего междоузлия, см / Length of the 2nd lowest internode, cm	Диаметр 2-го нижнего междоузлия, мм / Diameter of the 2nd lowest internode, mm	Масса 2-го нижнего междоузлия, мг / Weight of the 2nd lowest internode, mg	Масса отрезка 1 см, мг / Weight of a 1 cm cutting, mg
4,81 – 5,20 см / 4.81 – 5.20 cm					
Rodos (к-30256)	8,8	4,96	2,5	53,1	11,7
5,21 – 5,60 см / 5.21 – 5.60 cm					
Cooper (к-30375)	8,9	5,44	2,6	58,2	11,2
5,61 – 6,00 см / 5.61 – 6.00 cm					
Бионик / Bionic	9,0	5,61	2,3	39,4	8,5
752A	7,2	5,73	2,8	81,3	18,0
Местный (к-5983) / Local sample (k-5983)	6,6	5,83	2,5	83,1	16,5
Рейдер / Raider	9,0	5,73	2,5	78,0	15,8
6,01 – 6,40 см / 6.01 – 6.40 cm					
Bonita (к-35417)	9,0	6,38	2,2	61,7	11,8
Местный (к-2929) / Local sample (k-2929)	6,4	6,37	2,6	68,0	13,5
Казьминский (к-30926) / Kazminsky	8,8	6,18	2,3	4,94	9,5
6,41 – 6,80 см / 6.41 – 6.80 cm					
Новичок (к-30806) / Novichok	9,0	6,66	2,5	59,9	11,8
Местный (к-2930) / Local sample (k-2930)	6,6	6,53	2,6	71,1	13,0
6,81 – 7,20 см / 6.81 – 7.20 cm					
Sultan (к-19798)	9,0	7,15	2,4	59,9	11,6
Landrace (к-30349)	6,5	7,04	2,2	70,5	11,2
7,21 – 7,60 см / 7.21 – 7.60 cm					
Одесский 115 (к-29010) / Odessky 115	9,0	7,30	2,2	68,0	10,9
7,61 – 8,00 см / 7.61 – 8.00 cm					
Белгородский 100 / Belgorodsky 100	9,0	7,94	2,4	74,8	11,7
8,81 – 9,20 см / 8.81 – 9.20 cm					
Полярный 14 (к-15619) / Polyarny 14	7,9	8,89	2,9	122,2	16,5
$НСР_{05}$ / LSD_{05}	–	0,898	0,25	14	–

эти группы практически не различались по устойчивости к полеганию. К тому же устойчивые к полеганию образцы присутствовали во всех группах, кроме группы с длиной второго нижнего междоузлия от 8,8 до 9,2 см, куда вошел только сорт ‘Полярный 14’ (к-15619; Россия). Неустойчивые к полеганию сорта имели различную длину междоузлий и присутствовали в большинстве групп. Отсутствие в некоторых группах устойчивых или неустойчивых к полеганию сортов можно объяснить количеством изучаемых образцов. Возможно, если бы в составе этих групп было большее количество сортов, то и в них обнаружились бы разные по устойчивости к полеганию формы.

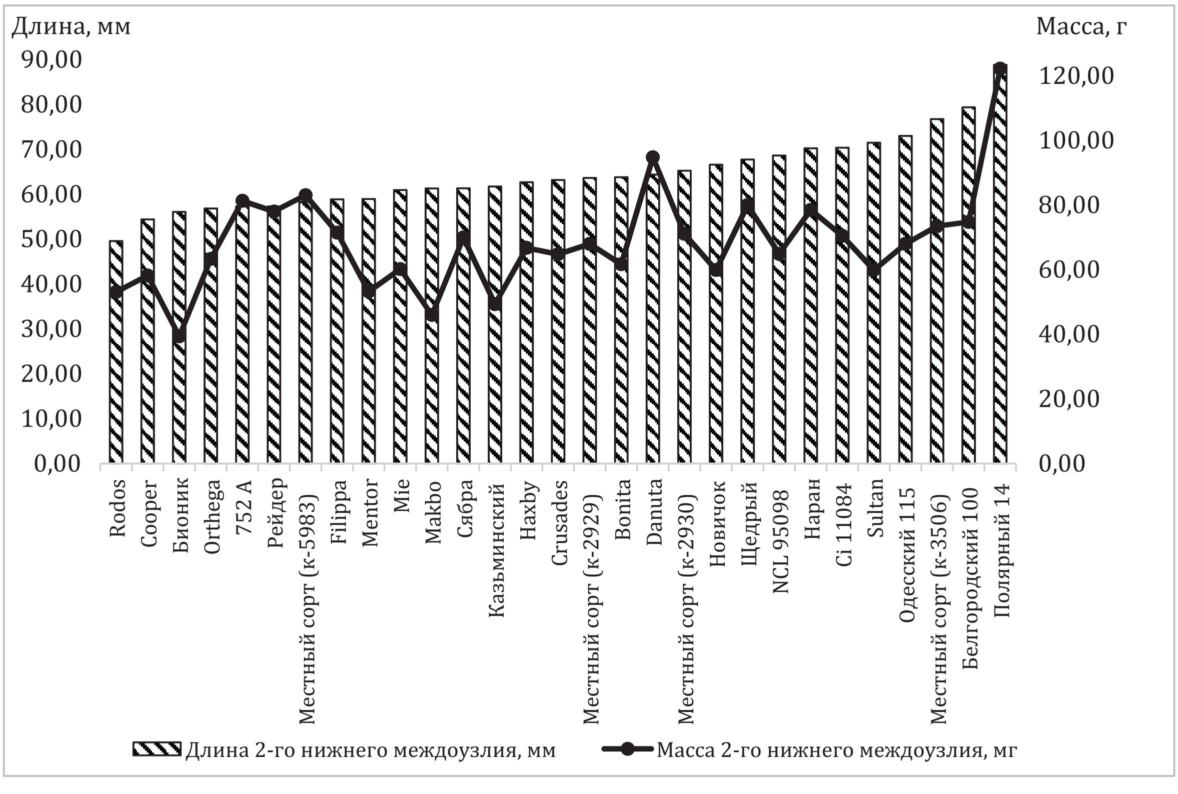
E.A. Torop et al. (2011), изучив сорта озимой ржи, выявили связь между устойчивостью к полеганию и массой междоузлий. В наших исследованиях устойчивость к полеганию не зависела от массы второго нижнего междоузлия, но была обнаружена тесная взаимосвязь между длиной второго нижнего междоузлия и его массой ($r = 0{,}57$). Наблюдалась тенденция увеличения массы второго нижнего междоузлия с увеличением его длины (рисунок), хотя это не было характерно для всех сортов.

массу междоузлий, равную 39,4 мг и 83,1 мг соответственно. При этом сорт ‘Бионик’ устойчив к полеганию, а образец из Афганистана – нет.

Исследователями (Isamitdinov et al., 2009; Packa et al., 2015) была выявлена средняя корреляционная зависимость между устойчивостью к полеганию и диаметром второго нижнего междоузлия. При изучении данного набора сортов не выявлено достоверной корреляции между этими двумя показателями. Следовательно, по диаметру второго нижнего междоузлия нельзя в полной мере оценить устойчивость растений к полеганию. Так, у образцов, имеющих разную устойчивость к полеганию, могут быть одинаковые по диаметру междоузлия. Например, сорт ‘Bonita’ (к-35417; Аргентина; устойчивость к полеганию – 9 баллов) и сорт ‘Landrace’ (к-30349; Перу; 6,5 баллов) имели одинаковый диаметр вторых нижних междоузлий, равный 2,2 мм. Более того, некоторые неустойчивые к полеганию сорта обладали большим диаметром второго нижнего междоузлия, чем устойчивые. Например, Местные из Китая (к-2929 и к-2930), превышающие по данному показателю неполегающие сорта, имели устойчивость

Рисунок. Зависимость массы второго нижнего междоузлия от его длины (ФАНЦ Северо-Востока; г. Киров; 2018, 2019 г.)

Figure. Dependence of the weight of the second lowest internode on its length (FASC North-East, Kirov; 2018, 2019)



Так, например, у сорта ‘Рейдер’ масса второго междоузлия равнялась 78,0 мг, длина – 5,73 см, а у сорта ‘Sultan’, существенно превышающего ‘Рейдер’ по длине второго междоузлия, масса этого междоузлия значительно меньше – 59,9 мг (см. табл. 3). Несмотря на такие различия, устойчивость к полеганию у обоих образцов равнялась 9 баллам. Даже сорта в пределах одной группы, имеющие примерно одинаковую длину вторых нижних междоузлий, различались по массе. Это видно на примере сорта ‘Бионик’ (Россия) и Местного из Афганистана (к-5983). Данные образцы, вошедшие в одну группу по длине, имели существенно отличающуюся

к полеганию равную 6,4 и 6,6 баллам соответственно. Аналогично и сорт ‘752A’ (Швейцария), отличавшийся наибольшим диаметром второго нижнего междоузлия, имел устойчивость к полеганию 7,2 балла.

На основании изложенного можно сделать вывод, что устойчивость к полеганию не всегда зависит от длины, диаметра и массы второго нижнего междоузлия.

Кроме приведенных выше лабораторных методов оценки устойчивости растений к полеганию, существует способ отбора устойчивых к полеганию форм зерновых колосовых злаков (озимая рожь) (Torop T.A. et al., 2010). По данной методике в качестве устойчивых к полеганию отбирают те растения, у которых масса одинаковых по длине отрезков междоузлий одного и того же яруса является максимальной. Авторы выявили очень сильную зависимость устойчивости к полеганию от массы отрезка второго снизу междоузлия (r = 0,968). В наших исследованиях такой зависимости не обнаружено. Более того, дисперсионный анализ показал отсутствие значимых различий между сортами по этому признаку. На основании чего можно заключить, что нельзя судить об устойчивости к полеганию по массе отрезка, так как не всегда устойчивые к полеганию образцы имеют большую массу отрезка по сравнению с неустойчивыми (см. табл. 3).

Для сравнения устойчивых и неустойчивых к полеганию образцов по элементам структуры урожая и морфологическим особенностям второго нижнего междоузлия мы провели их группировку (табл. 4). В результате проведенных исследований установлено, что устойчивые к полеганию коллекционные образцы имели большую урожайность по сравнению с неустойчивыми.

Таблица 4. Морфо-биологические признаки групп сортов ячменя, различных по устойчивости к полеганию (ФАНЦ Северо-Востока; г. Киров, 2018, 2019 г.)

Table 4. Morphobiological traits of barley cultivar groups differing in their resistance to lodging (FASC North-East, Kirov; 2018, 2019)

Параметр / Parameter	Группы сортов / Groups of cultivars	
	устойчивые к полеганию / resistant to lodging	неустойчивые к полеганию / susceptible to lodging
Устойчивость к полеганию, балл / Lodging resistance, score	8,8	6,6
Длина второго нижнего междоузлия, см / Length of the 2nd lowest internode, cm	6,32	6,77
Диаметр второго нижнего междоузлия, мм / Diameter of the 2nd lowest internode, mm	2,5	2,4
Масса второго нижнего междоузлия, мг / Weight of the 2nd lowest internode, mg	77,0	65,3
Масса отрезка 1 см, мг / Weight of a 1 cm cutting, mg	12,4	13,8
Высота растений, см / Plant height, cm	57,1	68,0
Общая кустистость, шт./растение / Total tilling, pcs/plant	2,2	1,6
Продуктивная кустистость, шт./растение / Productive tilling, pcs/plant	1,9	1,4
Длина колоса, см / Ear length, cm	6,5	4,9
Плотность колоса / Ear density	13,1	10,8
Количество колосков, шт. / Number of spikes, pcs	20,9	35,1
Количество зерен, шт. / Number of grains, pcs	18,7	28,9
Масса зерна с колоса, г / Grain weight per ear, g	0,91	1,00
Масса зерна с растения, г / Grain weight per plant, g	1,47	1,22
Масса 1000 зерен, г / 1000 grain weight, g	45,48	36,31
Урожайность, т/га / Yield, t/ha	3,8	2,6
Количество первичных корней в фазу «кущение», шт. / Number of primary roots in the tillering phase, pcs	7,2	7,0
Количество вторичных корней в фазу «кущение», шт. / Number of secondary roots in the tillering phase, pcs	4,2	3,6
Количество первичных корней в фазу «созревание», шт. / Number of primary roots in the ripening phase, pcs	7,0	6,7
Количество вторичных корней в фазу «созревание», шт. / Number of secondary roots in the ripening phase, pcs	17,4	15,2

Кроме того, выявлено, что неполегающие образцы обладали более высокой кустистостью, продуктивностью растения, массой 1000 зерен, длинным и плотным колосом, развитой вторичной корневой системой. Более высокая озерненность неустойчивых к полеганию образцов объясняется наличием в их группе многорядных ячменей. По остальным показателям эти группы незначительно отличаются друг от друга.

Заключение

Таким образом, не выявлено существенного влияния отдельных морфологических особенностей второго нижнего междоузлия на устойчивость к полеганию растений ячменя. Предварительный отбор неполегающих форм можно проводить по изученным критериям, но более эффективной будет оценка сортов по устойчивости к полеганию в полевом опыте в почвенно-климатических условиях Волго-Вятского региона с учетом комплекса морфологических признаков второго нижнего междоузлия. Для дальнейшей селекционной работы выделены образцы, сочетающие высокую урожайность с устойчивостью к полеганию и рядом селекционно ценных признаков: 'Белгородский 100', 'Наран' (к-30892), 'Казьминский' (к-30926), 'Щедрый' (к-31046) (Россия); 'Сябра' (к-29917), 'Рейдер' (Белоруссия); 'Одесский 115' (к-29010; Украина); 'Mie' (к-30379; Эстония); 'Rodos' (к-30256; Польша). Образцы 'Новичок' (к-30806), 'Бионик' (Россия); 'Crusades', 'Cooper' (Великобритания); 'Sultan' (к-19798; Нидерланды); 'NCK 95098' (к-35415; Аргентина); 'Filippa' (к-30574; Швеция); 'Haxby' (к-31053; США); 'Mentor' (к-30873; Дания); 'Orthega' (к-30468), 'Danuta' (к-30889) (Германия) также устойчивы к полеганию, но их необходимо скрещивать с более продуктивными сортами.

References/Литература

Batalova G.A. Selection of grain crops and peas for conditions of the Northeast of the European territory of Russia. *Legumes and Groat Crops.* 2015;2(14):20-26. [in Russian] (Баталова Г.А. Селекция зерновых культур и гороха для условий Северо-Востока Европейской территории России. *Зернобобовые и крупяные культуры*. 2015;2(14):20-26).

Griguletsky V.G. To the question of the stability of rectlinear forms of balance cutters of grain crops against flashback. Part 1. *Moscow Economic Journal*. 2019;9:532-557. [in Russian] (Григулецкий В.Г. К вопросу устойчивости прямолинейной формы равновесия стеблей зерновых культур против полегания. Часть 1. *Московский экономический журнал*. 2019;9:532-557). DOI: 10.24411/2413-046X-2019-19015

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

Isamitdinov R.N., Kekalo N.Yu., Kuznetsova T.E., Serkin N.V. Winter barley anatomical and morphological stem structure influence on lodging resistance. *Proceedings of the Kuban State Agrarian University.* 2009;20:175-179. [in Russian] (Исамитдинов Р.Н., Кекало Н.Ю., Кузнецова Т.Е., Серкин Н.В. Влияние анатомического и морфологического строения стебля озимого ячменя на устойчивость к полеганию. *Труды Кубанского государственного аграрного университета*. 2009;20:175-179).

Ivanova N.V., Anisimova A.V., Radyukevich T.N., Kovaleva O.N. Sources of agrobiological traits for breeding spring barley varieties in the North-West of the Russian Federation. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2016;177(3):94-102. [in Russian] (Иванова Н.В., Анисимова А.В., Радюкевич Т.Н., Ковалева О.Н. Источники хозяйственно ценных признаков для создания сортов ярового ячменя в Северо-Западном регионе РФ. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2016;177(3):94-102). DOI: 10.30901/2227-8834-2016-3-94-102

Kovrigina L.N., Zaushintsena A.V. Importance of short-stem barley forms in breeding for lodging resistance (Znachimost korotkostebelnykh form yachmenya v selektsii no ustoychivost k poleganiyu). In: P.L. Goncharov, Yu.A. Khristov (eds). *Crop breeding for resistance to extreme environmental factors in arid zones of Siberia* (*Selektsiya selskokhozyaystvennykh kultur na ustoychivost k ekstemalnym faktoram sredy v aridnykh zonakh Sibiri*). Novosibirsk; 2012. p.84-89. [in Russian] (Ковригина Л.Н., Заушинцена А.В. Значимость короткостебельных форм ячменя в селекции на устойчивость к полеганию. В кн.: *Селекция сельскохозяйственных культур на устойчивость к экстремальным факторам среды в аридных зонах Сибири* / под ред. П.Л. Гончарова, Ю.А. Христова. Новосибирск. 2012. С.84-89).

Lekeš J., Bareš I., Foral A., Odignal V., Ružička F., Bobek M. et al. International COMECON List of Descriptors for the Genus *Hordeum* L. (subgen. *Hordeum*). Leningrad: VIR; 1983. [in Russian; in English] (Лекеш Я., Бареш И., Форал А., Одигнал И., Ружичка Ф., Бобек М. и др. Международный классификатор СЭВ рода *Hordeum*. Ленинград: ВИР; 1983).

Loskutov I.G., Kovaleva O.N., Blinova E.V. Methodological Guidelines for the Study and Preservation of the World Collection of Barley and Oats (Metodicheskiye ukazaniya po izucheniyu i sokhraneniyu mirovoy kollektsii yachmenya i ovsa). St. Petersburg: VIR; 2012. [in Russian] (Лоскутов И.Г., Ковалева О.Н., Блинова Е.В. Методические указания по изучению и сохранению мировой коллекции ячменя и овса. Санкт-Петербург: ВИР; 2012).

Packa D. Wiwart M., Suchowilska E., Bieńkowska T. Morpho-anatomical traits of two lowest internodes related to lodging resistance in selected genotypes of *Triticum*. *International Agrophysics*. 2015;29(4):475-483. DOI: 10.1515/intag-2015-0053

Repko N.V., Koblyanskiy A.S., Khronyuk E.V. Plant height and lodging resistance of collection varieties of winter barley. *Polythematic Online Scientific Journal of Kuban State Agrarian University.* 2017;133:160-172. [in Russian] (Репко Н.В., Коблянский А.С., Хронюк Е.В. Высота растений и устойчивость к полеганию коллекционных сортов озимого ячменя. *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета*. 2017;133:160-172). DOI: 10.21515/1990-4665-133-015

Rodina N.A. Barley breeding in the northeast of the Non-Chernozem zone (Selektsiya yachmenya na Severo-Vostoke Nechernozemya). Kirov; 2006. [in Russian] (Родина Н.А. Селекция ячменя на Северо-Востоке Нечерноземья. Киров; 2006).

Shchennikova I.N., Nazarova N.N., Lisitsyn E.M. Multi-row barley cultivation methods in Volga-Vyatka region. *Zemledelie = Crop Farming.* 2011;6:20-22. [in Russian] (Щенникова И.Н., Назарова Н.Н., Лисицын Е.М. Приемы возделывания многорядного ячменя в Волго-Вятском регионе. *Земледелие.* 2011;6:20-22).

Tikhvinsky S.V., Doronin S.V., Dudina A.N., Tyuchkalov L.V. Field crops in the North-East of the European part of Russia (Polevye kultury na Severo-Vostoke Yevropeyskoy chasti Rossii) . Kirov; 2007. [in Russian] (Тихвинский С.В., Доронин С.В., Дудина А.Н., Тючкалов Л.В. Полевые культуры на Северо-Востоке Европейской части России. Киров; 2007).

Torop E.A., Chajkin V.V., Torop A.A. Method of estimation of winter rye selection material for lodging resistance. *Agricultural Science Euro-North-East*. 2011;3(22):14-16. [in Russian] (Тороп Е.А., Чайкин В.В., Тороп А.А. Способ оценки селекционного материала озимой ржи на устойчивость к полеганию. *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2011;3(22):14-16).

Torop E.A., Chajkin V.V., Torop A.A. Method of selection of lodging-resistant cereals. Russian Federation; patent number 2382549C2; 2008. [in Russian] (Тороп Е.А., Чайкин В.В., Тороп А.А. Способ отбора устойчивых к полеганию форм зерновых колосовых злаков. Российская Федерация; патент № 2382549С2; 2008). URL: https://yandex.ru/patents/doc/RU2382549C2_20100227 [дата обращения: 11.03.2020].

Udovenko G.V. (ed.) Diagnostics of plant resistance to stress: a methodological guide (Diagnostika ustoychivosti rasteniy k stressovym vozdeystviyam: metodicheskoye rukovodstvo). Leningrad: VIR; 1988. [in Russian] (Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям: методическое руководство / под ред. Г.В. Удовенко. Ленинград: ВИР; 1988).

Zakharov V.G., Syukov V.V., Yakovleva O.D. Correlation of morphoanatomical traits with lodging resistance in spring wheat in the Middle Volga region. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2014;18(3):506-510. [in Russian] (Захаров В.Г., Сюков В.В., Яковлева О.Д. Сопряженность анатомо-морфологических признаков с устойчивостью к полеганию яровой мягкой пшеницы в условиях Среднего Поволжья. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2014;18(3):506-510).

Zaushintsena A.V., Kovrigina L.N., Stepanyuk G.J., Olshevsky O.M. The nature of inheritance of the characters ‘wall radius’ and ‘stem diameter’ in barley (Kharakter nasledovaniya priznakov “radius stenki” i “diametr steblya” yachmenya). *The Bulletin of KrasGAU*. 2008;6:32-37. [in Russian] (Заушинцена А.В. Ковригина Л.Н., Степанюк Г.Я., Ольшевская О.М. Характер наследования признаков «радиус стенки» и «диаметр стебля» ячменя. *Вестник КрасГАУ*. 2008;6:32-37).

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

Зайцева И.Ю., Щенникова И.Н. Сопряженность морфологических признаков с устойчивостью к полеганию ярового ячменя в условиях Волго-Вятского региона. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(3):32-40. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-32-40

Zaytseva I.Yu., Shchennikova I.N. Association of morphological traits with lodging resistance in spring barley under the conditions of the Volga-Vyatka region. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(3):32-40. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-32-40

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/10.30901/2227-8834-2020-3-32-40

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
Zaytseva I.Yu. https://orcid.org/0000-0002-1228-2151
Shchennikova I.N. https://orcid.org/0000-0002-5143-9246

Элементы продуктивности коллекционного материала тритикале в условиях Среднего Приамурья

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-41-48
УДК 633.1:631.52
Поступление/Received: 13.01.2020
Принято/Accepted: 21.09.2020

Yield components of the triticale collection material in the environments of the Middle Amur region

К. В. ЗЕНКИНА, Т. А. АСЕЕВА*

Дальневосточный научно-исследовательский институт сельского хозяйства,
680521 Россия, Хабаровский край, Хабаровский район, с. Восточное, ул. Клубная, 13
* *aseeva59@mail.ru*

K. V. ZENKINA, T. A. ASEEVA*

Far Eastern Agricultural Research Institute,
13 Klubnaya St., Vostochnoe, Khabarovsky District, Khabarovsk Territory 680521, Russia
* *aseeva59@mail.ru*

Актуальность. Для создания новых высокоадаптированных сортов тритикале, обладающих высокой потенциальной продуктивностью и экологической устойчивостью к неблагоприятным факторам Среднего Приамурья, необходимо изучение коллекционного материала. Одна из важнейших задач – выделение эффективных источников и доноров тритикале по основным структурным элементам продуктивности и хозяйственно ценным признакам. **Материалы и методы**. Коллекционный материал представлен образцами ярового тритикале из коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР). Полевые опыты и изучение образцов проводили в соответствии с методиками государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур и полевого дела, руководствуясь методическими указаниями ВИР. **Результаты и обсуждение**. Сорта 'AC Certa' (Канада), 'Лана' (Беларусь), 'Золотой Гребешок' (Россия), 'Ульяна' (Беларусь) сформировали оптимальную урожайность в условиях Среднего Приамурья. Относительно крупное зерно за годы исследований отмечено у образцов 'Укро' (Россия), 'Скорый' (Россия), 'Ровня' (Россия). Высокое накопление белка в зерне и незаменимой аминокислоты лизина установлено у сорта 'Дагво' (Россия). Выявлено, что 68% изученных сортообразцов обладают высокой устойчивостью к полеганию. Генотипы 'Лана' (Беларусь), 'Згурівський' (Украина), 'Оберіг харьківський' (Украина), 'Tleridal' (Швейцария) – средневосприимчивые к мучнистой росе. Сорта 'Память Мережко' (Россия) и 'Виктория' (Украина) – устойчивые к фузариозу колоса и зерна. **Заключение**. Для дальнейшей селекционной работы выделены эффективные источники по комплексу важнейших элементов продуктивности: 'AC Certa' (Канада), 'Лана' (Беларусь), 'Лотос' (Беларусь), 'Ярило' (Россия), 'Память Мережко' (Россия), 'Виктория' (Украина), 'Ровня' (Россия), 'Кобзар' (Украина), 'Оберіг харьківський' (Украина), 'Tleridal' (Швейцария), 'Sandio' (Швейцария). Данные образцы могут быть включены в селекционные программы Среднего Приамурья и других регионов страны.

Ключевые слова: зерновые культуры, коллекция, исходный материал, продуктивность, источники хозяйственно ценных признаков.

Background. Development of new highly adaptable triticale cultivars with high yield potential and environmental resistance to adverse factors of the Middle Amur region requires a study of the collection material. One of the priorities of such research is to identify effective sources and donors among triticale accessions according to the main yield components and economically useful traits. **Materials and methods**. The material was represented by spring triticale cultivars from the collection of the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR). **Results**. The following cultivars were identified as promising breeding sources: 'AC Certa', 'Lana', 'Zolotoy Grebeshok' and 'Ulyana' for their optimal yield in the Middle Amur region; 'AC Certa', 'Zolotoy Grebeshok', 'Mykola', 'Korovai Kharkivsky' and 'Victoria' for earliness; 'Victoria', 'Rovnya', 'Kobzar' (Ukraine), 'Losinovske', 'Zgurivsky' and 'Sandio' for plant height; 'Lotos', 'Yarilo', 'ZG 186', 'Oberig Kharkivsky', 'Tleridal' and 'Sandio' for ear length; 'Lana', 'Ulyana', 'Lotos, 'Yarilo', 'ZG 186', 'Pamyat Merezhko', 'Victoria', 'Kobzar', 'Oberig Kharkivsky', 'Tleridal' and' Sandio' for the number of spikelets per ear; 'AC Certa', 'Lana', 'Dagvo', 'Pamyat Merezhko' and 'Kobzar' for the number of grains per ear; 'Ukro', 'Lotos', 'Yarilo', 'Rovnya' and 'Kobzar' for grain weight per ear; 'Ukro', 'Skory' and 'Rovnya' for grain size; 'Ukro', 'Skory' and 'Rovnya' protein content in grain; 'Dagvo', 'Kobzar' and 'Sandio' for lysine content in grain; 'AC Certa', 'Lana', 'Skory', 'Lotus', 'Yarilo', 'ZG 186', 'Pamyat Merezhko', 'Victoria', 'Rovnya', 'Kobzar', 'Losinovske', 'Zgurivsky', 'Oberig Kharkivsky', 'Tleridal' and 'Sandio' for resistance to lodging; 'Lana', 'Pamyat Merezhko', 'Victoria Zgurivsky', 'Oberig Kharkivsky' and 'Tleridal' for disease resistance. **Conclusion**. The selected accessions can be used in breeding programs of the Middle Amur region and other regions of the country.

Key words: cereal crops, collection, source material, yield, sources of economically useful traits.

Введение

Одна из причин кризисного состояния сельского хозяйства – уравнительность систем природопользования и нарушение требований о размещении культивируемых видов и сортов в строгом соответствии с особенностями их адаптивности, то есть в наиболее благоприятных для их возделывания почвенно-климатических нишах (Rybas, 2016). Экологические условия в различных регионах нашей планеты существенно различаются во времени и пространстве (Eliseev, Sataev, 2018). Селекция – это наиболее доступное, централизованное и экономически эффективное средство перехода к адаптивной стратегии интенсификации агропромышленного комплекса, достижения его высокой наукоемкости, ресурсоэкономичности и экологической безопасности (Zhuchenko, 2012). На протяжении последних лет возрастает интерес ученых к изучению и внедрению в производство новой зерновой культуры – ярового тритикале, в которой удачно сочетаются высокая экологическая пластичность ржи с урожайностью и качеством пшеницы (Boyarkin et al., 2015).

Яровое тритикале – это культура, отличающаяся большим потенциалом урожайности, повышенным содержанием белка и незаменимых аминокислот, что определяет ее пищевое и кормовое достоинство (Muratov et al., 2017). Тритикале обладает высокой экологической пластичностью, благодаря чему она может быть использована в регионах неустойчивого земледелия, где получить высокие устойчивые урожаи пшеницы нет возможности (Kroupin, 2018). Однако распространение тритикале сдерживается значительными колебаниями урожайности и отсутствием адаптированных сортов, отвечающих разнообразным требованиям производства (Diyachuk et al., 2018). Одним из путей решения этой проблемы является использование имеющегося сортового разнообразия, предоставляемого крупнейшими селекционными центрами страны (Muslimov et al., 2018). Мировые ресурсы тритикале, сосредоточенные в коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), служат исходным материалом – генетической базой для выведения новых сортов, отвечающих требованиям селекции культуры на современном этапе (Lekontzeva et al., 2019). Изучение качественно новых генетических источников и выделение особо ценных признаков или их комплексов на естественном фоне позволит существенно повысить эффективность создания перспективного селекционного материала, адаптированного к условиям внешней среды (Uspenskaja et al., 2018). Особо актуально это для регионов со сложными почвенно-климатическими и погодными условиями, к каковым относится Дальний Восток в целом и Среднее Приамурье в частности.

В связи с этим *цель исследований* – изучить основные элементы продуктивности коллекционного материала тритикале в условиях Среднего Приамурья и выделить источники хозяйственно ценных признаков для включения их в селекционный процесс.

Материалы и методика проведения исследований

Экспериментальная часть работы проводилась в течение 2015–2019 гг. на опытных полях Дальневосточного научно-исследовательского института сельского хозяйства (Хабаровский край). Почва лугово-бурая, оподзоленно-глееватая, тяжелосуглинистая. Площадь делянки – 4 м^2, повторность трехкратная. Норма высева – 5,5 млн всхожих зерен на гектар. Предшественник – чистый пар. Посев произведен селекционной сеялкой «ССФК-7М», уборка –селекционным комбайном Hege 125. Объект исследований – коллекционные образцы тритикале различного эколого-географического происхождения (табл. 1). Стандарт – сорт ярового

Таблица 1. Происхождение коллекционных образцов ярового тритикале

Table 1. The origin of spring triticale accessions

№ по каталогу ВИР	Название образца	Происхождение
3644	Укро (стандарт)	Россия, Воронежская область
3592	AC Certa	Канада
3630	Лана	Беларусь
3645	Дагво	Россия, Воронежская область
3676	Скорый	Россия, Ленинградская область
3677	Золотой Гребешок	Россия, Ленинградская область
3887	Ульяна	Беларусь
3888	Узор	Беларусь
3889	Лотос	Беларусь
3890	Мыкола	Украина
3892	Коровай харківський	Украина
3895	Ярило	Россия, Краснодарский край
3907	ЗГ 186	Россия, Ленинградская область
3916	Память Мережко	Россия, Владимирская область
3922	Виктория	Украина
3935	Ровня	Россия, Владимирская область
3958	Кобзар	Украина
3959	Лосиновске	Украина
3960	Згурівський	Украина
3961	Оберіг харьківський	Украина
3986	Tleridal	Швейцария
3988	Sandio	Швейцария

тритикале ‘Укро’, включенный в Реестр селекционных достижений и рекомендованный для возделывания в Дальневосточном регионе.

Закладку опытов и изучение сортообразцов проводили в соответствии с методиками государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур (Methods…, 1989) и полевого дела (Dospekhov, 1985), руководствуясь методическими указаниями ВИР (Merezhko, 1999). Выделение чистой культуры фузариоза проводилось на питательной среде (Gagkaeva et al., 2011), микологическая идентификация грибов рода *Fusarium* Link – по определителю (Gerlach, Nirenberg, 1982).

Результаты исследований и обсуждение

В годы проведения исследований гидротермический режим отличался от среднемноголетних значений как по сумме положительных температур, так и по распределению осадков в течение вегетации. Вследствие позднего схода снежного покрова и сильного переувлажнения почвы весной 2015 и 2016 г. посев провели 18 и 21 мая соответственно. В 2017, 2018 и 2019 г. посев сортообразцов ярового тритикале провели в оптимальные сроки – 21, 25 и 18 апреля соответственно. Агрометеорологические условия для роста, развития и формирования высокой продуктивности были благоприятными в 2017 и 2019 г. Отмечена отличительная особенность в остальные годы – недобор тепла с резкими колебаниями ночных и дневных температур приземного слоя воздуха в период активной вегетации растений (рис. 1). Чрезмерное количество выпавших осадков во второй половине июля и в первой декаде августа значительно затрудняло проведение уборочных работ.

вегетационного периода (от посева до полной спелости) исследуемых генотипов тритикале составила от 95 до 101 дня. В благоприятных условиях наиболее короткий период вегетации отмечен у сортообразцов ‘AC Certa’, ‘Золотой гребешок’, ‘Мыкола’, ‘Коровай харківський’, ‘Виктория’, но при ухудшении условий выращивания он увеличивался на 10–15 дней.

Одним из основных признаков продуктивности, обусловливающих целесообразность возделывания того или иного сорта, является урожайность, которая зависит от функционирования и взаимодействия множества морфологических, биохимических, физиологических и генетических систем. Урожайность большинства образцов ярового тритикале имеет высокие значения коэффициентов вариации (до 56%), что свидетельствует о сильной зависимости от климатических условий окружающей среды. Максимальная реализация урожайности отмечена у сорта ‘AC Certa’ в 2019 году – 69,9 ц/га (рис. 2). Стабильным формированием урожайности зерна (V = 9%) в годы исследований характеризуется сорт ‘Виктория’. В среднем за годы исследований выделены высокоурожайные образцы ‘AC Certa’, ‘Лана’, ‘Золотой Гребешок’, ‘Ульяна’; превышение над стандартным сортом ‘Укро’ составляет 4,5–10,1 ц/га.

Уровень урожайности сортов тритикале в условиях Среднего Приамурья определяется важнейшими структурными элементами продуктивности, такими как продуктивная кустистость, число колосков, количество зерен с колоса, вес и крупность зерен в колосе (табл. 2). Наибольшей продуктивной кустистостью в годы исследований характеризовались сорта ‘AC Certa’, ‘Лана’, ‘Ульяна’, ‘Золотой Гребешок’, ‘Узор’.

Среднее значение числа колосков в главном колосе у коллекционных образцов тритикале варьировало от

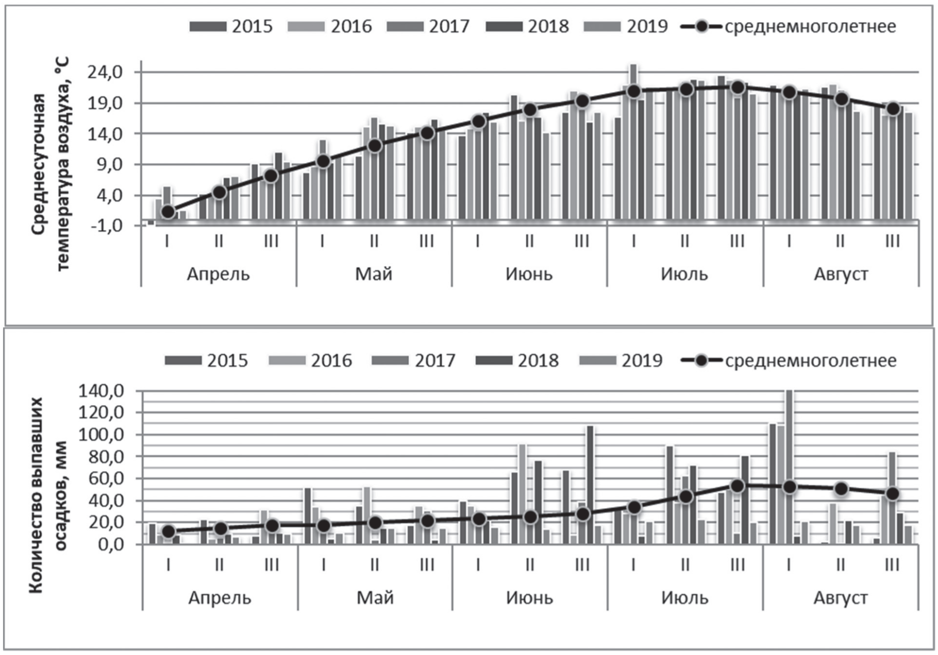


Рис. 1. Агрометеорологические условия в годы проведения исследований, 2015–2019 гг.

Fig. 1. Agrometeorological conditions during the years of research, 2015–2019

Продолжительность вегетации в условиях Среднего Приамурья является одним из основных биологических свойств растений, что особенно важно для региона в связи с неустойчивым гидротермическим режимом в летний период. Продолжительность полного ве-

21 до 23 шт. Выделен сорт ‘Tleridal’ (к-3986, Швейцария), который стабильно формировал 25 колосков в колосе в течение всех лет испытаний. Количество зерен в главном колосе существенно зависит от фертильности цветков и числа колосков. Озерненность изучае-

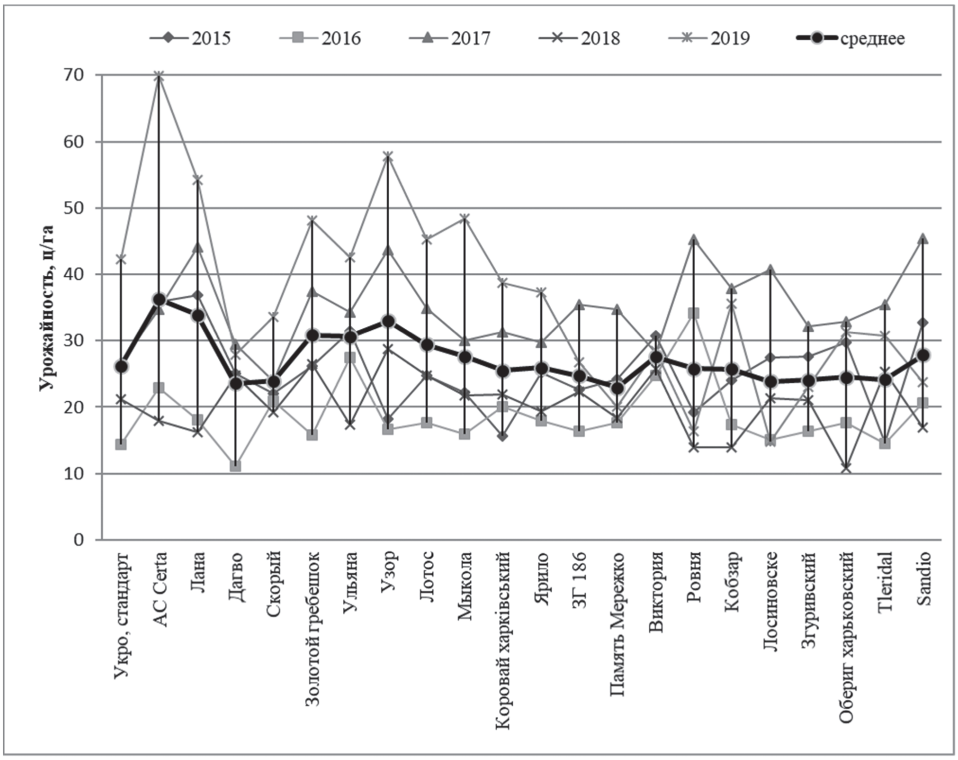


Рис. 2. Урожайность сортов ярового тритикале в условиях Среднего Приамурья, 2015–2019 гг.
Fig. 2. The yield of spring triticale cultivars in the environments of the Middle Amur region, 2015–2019

мых генотипов тритикале варьировала в широких пределах и сильно обусловлена условиями вегетации (V = 3–32%). В данной экологической зоне максимальное количество зерен в главном колосе сформировали сорта 'АС Certa', 'Лана', 'Дагво', 'Память Мережко', 'Кобзар'.

Вес зерна с главного колоса – важнейший структурный элемент продуктивности растений. Масса зерна у сортов тритикале существенно варьировала по годам, что свидетельствует о высокой степени зависимости от климатических условий. По массе зерна с главного колоса превышение над стандартным сортом 'Укро' отмечено только у сорта 'Лотос', что в пределах ошибки опыта. Коллекционные образцы 'Ярило', 'Ровня', 'Кобзар' сформировали вес зерна с главного колоса на уровне стандарта.

Крупность зерна, выраженная через массу 1000 зерен, – существенный признак, обусловливающий формирование урожайности. Оптимальные условия в период формирования и налива зерна способствуют формированию высокой массы 1000 зерен – более 40 г. Недостаток тепла и чрезмерное переувлажнение в репродуктивный период приводят к резкому снижению крупности зерна у образцов тритикале. В среднем за годы исследований наибольшая крупность зерна отмечена у сортов 'Скорый' (35,9 г), 'Ровня' (35,8 г) и находилась фактически в пределах стандартного сорта 'Укро' (35,7 г).

Коллекционные образцы ярового тритикале представлены низкорослыми и среднерослыми формами. По всем изучаемым образцам высота растений изменялась и находилась в зависимости от условий вегетации, о чем свидетельствует коэффициент вариации (V = 4–16%). Выделены сорта 'Виктория' (99 см), 'Ровня' (84 см), 'Кобзар' (94 см), 'Лосиновске' (97 см), 'Згурівський' (98 см), 'Sandio' (97 см) характеризующиеся оптимальной высотой растений для дальнейшей селекционной работы по повышению устойчивости образцов к полеганию.

Содержание белка в зерне тритикале является одним из немаловажных критериев показателей качества, так как с ним связана кормовая и питательная ценность культуры. В благоприятные годы максимальное значение данного признака отмечено у сортообразцов 'Дагво' и 'Tleridal' – 18,1 и 17,1% соответственно, однако при воздействии стрессовых факторов содержание белка у них значительно снижается. В среднем за годы исследований высоким содержанием белка характеризовались сорта 'Дагво', 'Скорый', 'Золотой Гребешок', превышая стандартный сорт 'Укро' в пределах ошибки опыта на 0,2–0,6%. Питательная ценность белка зависит от содержания в нем незаменимых аминокислот. Все исследуемые образцы тритикале характеризовались высокой биологической ценностью белков с высоким содержанием в них незаменимой аминокислоты лизина. Максимальное содержание лизина в зерне отмечено у сортов 'Лосиновске' – 754,0 мг% (2016 г.), 'Згурівський' – 716,2 мг% (2016 г.), 'Sandio' – 741,1 мг% (2019 г.). Выделены образцы с высоким содержанием лизина во все годы исследования – 'Дагво' (522 мг%), 'Кобзар' (512 мг%), 'Sandio' (518 мг%). Содержание незаменимой аминокислоты у данных образцов выше стандарта 'Укро' (368 мг%) на 144–154 мг%.

Зерновые колосовые культуры в условиях муссонного климата подвержены сильному полеганию растений, при этом потери урожайности зерна в крайне неблагоприятных условиях могут достигать более 50%. (Aseeva, Karacheva, 2016). Устойчивость к полеганию по девятибалльной шкале у образцов тритикале варьировала от 2 до 9 баллов, у стандартного сорта 'Укро' – 7 баллов. Высокая устойчивость (8–9 баллов) во все годы исследований установлена у образцов с различ-

Таблица 2. Элементы продуктивности коллекционных образцов тритикале в условиях Среднего Приамурья, 2015–2019 гг.
Table 2. Yield components of the tested triticale accessions in the Middle Amur region, 2015–2019

№ по каталогу ВИР	Название сорта	Посев – спелость		Высота растений,		Продуктивная кустистость		Длина главного колоса,		Число колосков в главном колосе		Количество зерен в главном колосе		Вес зерен с главного колоса		Масса 1000 зерен		Содержание белка в зерне		Содержание лизина в зерне	
		X, дни	V, %	X, см	V, %	X,	V, %	X, см	V, %	X, шт.	V, %	X, шт.	V, %	X, г	V, %	X, г	V, %	X, мг	V, %	X, мг	V, %
3644	Укро (стандарт)	97	3	112	8	1,6	8	9,4	9	21	5	41	10	1,65	19	35,7	11	15,1	7	368	10
3592	AC Certa	96	4	118	8	2,0	10	9,8	9	21	7	52	10	1,54	16	30,4	13	15,1	5	365	11
3630	Лана	97	3	106	9	1,9	7	9,1	8	23	4	48	11	1,58	21	33,4	18	14,7	11	364	19
3645	Дагво	97	4	121	5	1,4	6	9,2	14	21	10	48	12	1,31	13	27,3	16	15,3	13	522	26
3676	Скорый	97	4	115	7	1,5	3	9,7	9	21	8	40	15	1,28	29	35,9	23	15,7	7	403	27
3677	Золотой Гребешок	95	3	112	12	1,7	5	8,8	13	21	6	44	10	1,51	23	34,7	19	15,2	6	395	24
3887	Ульяна	98	5	119	13	1,8	4	9,1	7	23	8	40	13	1,32	28	32,7	13	14,2	9	382	7
3888	Узор	97	6	110	9	1,7	10	9,8	7	21	10	44	24	1,39	33	32,1	16	14,0	8	398	10
3889	Лотос	99	5	111	7	1,6	9	10,1	13	23	14	47	14	1,68	36	34,4	19	14,6	10	444	20
3890	Мыкола	96	5	115	4	1,5	12	9,8	3	21	4	40	21	1,36	33	32,8	15	13,9	13	380	10
3892	Коровай харківський	95	5	109	6	1,2	8	9,6	5	21	7	27	32	1,00	64	34,6	17	13,9	9	396	21
3895	Ярило	97	5	105	9	1,3	7	10,1	7	23	0	47	9	1,65	10	30,1	30	13,9	9	398	14
3907	ЗГ 186	97	4	109	11	1,4	4	10,1	4	23	5	44	15	1,42	13	32,4	22	14,2	8	401	13
3916	Память Мережко	100	6	109	5	1,5	5	9,6	7	23	9	48	10	1,46	11	30,8	10	14,0	10	420	19
3922	Виктория	96	3	99	14	1,6	2	9,4	15	23	12	46	7	1,47	17	32,2	16	13,8	6	333	13
3935	Ровня	98	2	84	13	1,4	11	8,9	13	21	6	45	9	1,63	17	35,8	13	13,8	4	345	10
3958	Кобзар	98	4	94	15	1,4	8	9,5	8	23	4	54	11	1,63	27	32,4	23	14,5	6	512	25
3959	Лосиновске	98	3	97	16	1,3	8	9,7	4	21	8	42	4	1,42	17	33,9	10	14,7	7	476	33
3960	Згурівський	98	4	98	5	1,3	6	9,3	7	21	8	40	11	1,43	26	35,2	19	14,8	4	475	35
3961	Оберіг харьківський	99	5	110	9	1,4	7	11,0	9	23	6	45	3	1,46	17	32,6	15	14,5	1	358	13
3986	Tleridal	100	3	107	5	1,2	7	10,7	7	25	0	46	7	1,18	42	29,1	37	14,6	12	434	33
3988	Sandio	101	4	97	6	1,5	8	10,8	12	23	5	47	12	1,59	9	31,3	7	14,1	6	518	32

Примечание: X – среднее значение (mean), V – коэффициент вариации (coefficient of variation) ной высотой растений ‘AC Certa’ (118 см), ‘Лана’ (106 см), ‘Скорый’ (115 см), ‘Лотос’ (111 см), ‘Ярило’ (105 см), ‘ЗГ 186’ (109 см), ‘Память Мережко’ (109 см), ‘Виктория’ (99 см), ‘Ровня’ (84 см), ‘Кобзар’ (94 см), ‘Лосиновске’ (97 см), ‘Згурівський’ (98 см), ‘Оберіг харьківський’ (110 см), ‘Tleridal’ (107 см), ‘Sandio’ (97 см).

Среднее Приамурье характеризуется крайне высоким инфекционным фоном. Грибные заболевания являются наиболее вредоносными и опасными, вызывая снижение урожая и ухудшение посевных качеств семян. Особый вред они наносят в годы с относительной влажностью воздуха более 70% и среднесуточной температурой 22–25°С во второй половине вегетации. Считается, что растения тритикале имеют более высокую устойчивость к многочисленным болезням в сравнении с другими зерновыми культурами, однако в последнее время и культура тритикале стала поражаться всевозможными видами заболеваний (Bushtevich et al., 2018). За годы исследований диагностировано три грибные болезни: спорынья – *Claviceps purpurea* Tul., фузариоз колоса и зерна – *Fusarium* spp., мучнистая роса – *Blumeria graminis* (DC.) Speer. (syn. *Erysiphe graminis* DC.).

В 2017 году сложились благоприятные условия (количество выпавших осадков и среднесуточная температура приземного слоя воздуха в период цветения были выше среднемноголетних значений на 4 мм и 4,4°С соответственно, что способствовало повышению относительной влажности воздуха до 90–100%.) для формирования единичных склероций спорыньи (*Claviceps purpurea*) у сортов ‘Укро’ (0,012 склероций на колос), ‘ЗГ 186’ (0,002 склероций на колос), ‘Sandio’ (0,005 склероций на колос).

Из всех изученных образцов сорта ‘Лана’, ‘Згурівський’, ‘Оберіг харьківський’, ‘Tleridal’ по девятибалльной шкале характеризуются как средневосприимчивые (5 баллов) к мучнистой росе (*Blumeria graminis*), остальные генотипы – как восприимчивые (3 балла).

В годы исследований в посевах тритикале доминировали виды *Fusarium graminearum* Schwabe и *F. avenaceum* (Fr.) Sacc., которые локализовались в области зародыша зерна (внутренняя инфекция). По отношению к фузариозу зерна образцы тритикале проявили следующую норму реакции по пятибалльной шкале: устойчивые (1 балл) – 9% образцов (сорта ‘Память Мережко’, ‘Виктория’) и умеренно устойчивые (2 балла) – 91% сортов (остальные образцы).

В результате изучения коллекционных образцов по основным хозяйственно ценным признакам и структурным элементам продуктивности выделены эффективные источники для использования в дальнейших селекционных программах (табл. 3). Сорта ‘AC Certa’, ‘Лана’, ‘Лотос’, ‘Ярило’, ‘Память Мережко’, ‘Виктория’, ‘Ровня’, ‘Кобзар’, ‘Оберіг харьківський’, ‘Tleridal’, ‘Sandio’ характеризуются комплексом основных хозяйственно важных признаков продуктивности.

Таким образом, по комплексу хозяйственно ценных признаков выделены образцы тритикале: ‘Лана’ (к-3630), ‘Золотой Гребешок’ (к-3677), ‘Память Мережко’ (к-3916), ‘Виктория’ (к-3922), ‘Згурівський’ (к-3960), ‘Оберіг харьківський’ (к-3961), ‘Tleridal’ (к-3986).

Таблица 3. Источники и доноры основных хозяйственно ценных признаков

Table 3. Sources and donors of major economically useful traits

Селекционно ценные признаки	Источники
Продолжительность вегетационного периода	AC Certa (Канада), Золотой Гребешок (Россия), Мыкола (Украина), Коровай харківський (Украина), Виктория (Украина)
Урожайность	AC Certa (Канада), Лана (Беларусь), Золотой Гребешок (Россия), Ульяна (Беларусь)
Высота растений	Виктория (Украина), Ровня (Россия), Кобзар (Украина), Лосиновске (Украина), Згурівський (Украина), Sandio (Швейцария)
Длина главного колоса	Лотос (Беларусь), Ярило (Россия), ЗГ 186 (Россия), Оберіг харьківський (Украина), Tleridal (Швейцария), Sandio (Швейцария)
Число колосков в главном колосе	Лана (Беларусь), Ульяна (Беларусь), Лотос (Беларусь), Ярило (Россия), ЗГ 186 (Россия), Память Мережко (Россия), Виктория (Украина), Кобзар (Украина), Оберіг харьківський (Украина), Tleridal (Швейцария), Sandio (Швейцария)
Количество зерен в главном колосе	AC Certa (Канада), Лана (Беларусь), Дагво (Россия), Память Мережко (Россия), Кобзар (Украина)
Вес зерен с главного колоса	Укро (Россия), Лотос (Беларусь), Ярило (Россия), Ровня (Россия), Кобзар (Украина)
Масса 1000 зерен	Укро (Россия), Скорый (Россия), Ровня (Россия)
Содержание белка в зерне	Дагво (Россия), Скорый (Россия), Золотой Гребешок (Россия)
Содержание лизина в зерне	Дагво (Россия), Кобзар (Украина), Sandio (Швейцария)
Устойчивость к полеганию	AC Certa (Канада), Лана (Беларусь), Скорый (Россия), Лотос (Беларусь), Ярило (Россия), ЗГ 186 (Россия), Память Мережко (Россия), Виктория (Украина), Ровня (Россия), Кобзар (Украина), Лосиновске (Украина), Згурівський (Украина), Оберіг харьківський (Украина), Tleridal (Швейцария), Sandio (Швейцария).
Устойчивость к болезням	Лана (Беларусь), Память Мережко (Россия), Виктория (Украина) Згурівський (Украина), Оберіг харьківський (Украина), Tleridal (Швейцария)

Заключение

Проведена комплексная оценка коллекционных образцов тритикале различного эколого-географического происхождения по основным структурным элементам продуктивности в течение пяти лет в условиях Среднего Приамурья.

В результате изучения основных хозяйственно ценных признаков и развития фитопатогенов в естественных провокационных условиях выделены источники для дальнейшей селекционной работы. Образцы ‘Лана’ (к-3630), ‘Золотой Гребешок’ (к-3677), ‘Память Мережко’ (к-3916), ‘Виктория’ (к-3922), ‘Згурівський’ (к-3960), ‘Оберіг харьківський’ (к-3961), ‘Tleridal’ (к-3986) являются ценным материалом для создания высокоадаптированных сортов тритикале в условиях Среднего Приамурья и могут быть рекомендованы для включения в селекционные программы данного региона.

References/Литература

Aseeva T.A., Karacheva G.S. Current state and perspectives of the development of spring crops breeding and seed production in Khabarovsk Territory. *Proceedings of the Kuban State Agrarian University*. 2016:2(59):61-71. [in Russian] (Асеева Т.А., Карачева Г.С. Современное состояние и перспективы развития селекции и семеноводства яровых зерновых культур в Хабаровском крае. *Труды Кубанского государственного аграрного университета*. 2016:2(59):61-71).

Boyarkin E.V., Moshkina N.S., Yurchenko S.V. The yield of spring triticale of the world collection of Vavilov Research Institute of Plant Industry in Irkutsk-Cheremkhovo forest-steppe zone. In: *Innovative Aspects of Agronomy in Increasing Plant Productivity and Product Quality in Siberia. Proceedings of the International Scientific and Practical Conference*. Ulan-Ude; 2015. p.32-36. [in Russian] (Бояркин Н.В., Мошкина Н.С., Юрченко С.В. Урожайность ярового тритикале из мировой коллекции ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова в условиях Иркутско-Черемховской лесостепной зоны. В кн.: *Инновационные аспекты агрономии в повышении продуктивности растений и качества продукции в Сибири. Материалы международной научно-практической конференции*. Улан-Уде; 2015. С.32-36).

Bushtevich V.N., Grib S.I., Poznyak E.I., Shishlova N.P., Dashkevich M.A. Characteristics of modern winter triticale varieties of Russian breeding in Belarus and Belarusian varieties in Russia. In: A.I. Grabovets (ed.). *Triticale. Proceedings of 8-th International Scientific-Practical Conference “Triticale and stabilization production of grain, fodder and products of their processing”, June 7, 2018, Rostov-on-Don, Russia (eighth edition).* Rostov-on-Don; 2018. p.26-34. [in Russian] (Буштевич В.Н., Гриб С.И., Позняк Е.И., Шишлова Н.П., Дашкевич М.А. Характеристика современного сортимента тритикале озимого Российской селекции в условиях Беларуси и белорусских сортов, районированных в России. В кн.: *Тритикале. Материалы 8-й научно-практической конференции «Тритикале и стабилизация производства зерна, кормов и продуктов их переработки» 7 июня 2018 года (восьмой выпуск)* / под ред. А.И. Грабовца. Ростов-на-Дону; 2018. С.26-34).

Diyachuk T.I., Kibkalo I.A., Pominov A.V., Khomyakova O.V., Akinina V.N. The promising lines in the breeding work with triticale for the Povolzhie conditions. *Grain Economy of Russia*. 2018;5(59):39-43. [in Russian] (Дьячук Т.И., Кибкало И.А., Поминов А.В., Хомякова О.В., Акинина В.Н. Перспективные линии в селекции тритикале для условий Поволжья. *Зерновое хозяйство России*. 2018;5(59):39-43). DOI: 10.31367/2079-8725-2018-59-5-39-43

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

Eliseev S.L., Sataev E.F. Adaptive reaction of oat varieties on change in time and space ecological conditions. *Perm Agrarian Journal*. 2018;2(22):44-49. [in Russian] (Елисеев С.Л., Сатаев Э.Ф. Адаптивная реакция сортов овса на изменение временных и пространственных экологических условий. *Пермский аграрный вестник*. 2018;2(22):44-49).

Gagkaeva T.Yu., Gavrilova O.P., Levitin M.M., Novozhilov K.V. *Fusarium* of grain crops (Fuzarioz zernovykh kultur). *Sashchita i karantin rasteniy = Plant Protection and Quarantine*. 2011; Suppl 5:69-120. [in Russian] (Гагкаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Левитин М.М., Новожилов К.В. Фузариоз зерновых культур. *Защита и карантин растений*. 2011; Приложение 5:69-120).

Gerlach W., Nirenberg H. The genus *Fusarium* – a pictorial atlas. *Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land-und Forstwirtschaft*. 1982;209:1-406.

Kroupin P.Yu. The effect of the *Ddw1* and *Vrn-A1* genes on agronomically important traits in spring triticale. In: N.I. Bukhtoyarov, N.M. Derkanosova, V.A. Gulevsky (eds). *Topical Problems of Agronomy in Modern Russia and Ways of Their Solution. Proceedings of the International Scientific and Practical Conference.* Voronezh; 2018. p.50-57. [in Russian] (Крупин П.Ю. Влияние генов *Ddw1* и *Vrn-A1* на агрономически значимые признаки у яровой тритикале. В кн.: *Актуальные проблемы агрономии современной России и пути их решения. Материалы международной научно-практической конференции* / под ред. Н.И. Бухтоярова, Н.М. Дерканосовой, В.А. Гулевского. Воронеж; 2018. С.50-57).

Lekontzeva T.A., Yufereva N.I., Statzenko E.S. Assessment of initial material (base line) for creation of the varieties of spring triticale in the climate of Volgo-Vyatskiy region. *Far East Agrarian Bulletin*. 2019;2(50):45-52. [in Russian] (Леконцева Т.А., Юферева Н.И., Стаценко Е.С. Оценка исходного материала для создания сортов яровой тритикале в условиях Волго-Вятского региона. *Дальневосточный аграрный вестник*. 2019;2(50):45-52). DOI: 10.24411/1999-6837-2019-12019

Merezhko A.F. (ed.). Replenishment, preservation *in vivo* and study of the world collection of wheat, *Aegilops* and triticale: Methodological guidelines (Popolneniye, sokhraneniye v zhivom vide i izucheniye mirovoy kollektsii pshenitsy, egilopsa i tritikale: Metodicheskiye ukazaniya). St. Petersburg: VIR; 1999. [in Russian] (Пополнение, сохранение в живом виде и изучение мировой коллекции пшеницы, эгилопса и тритикале: Методические указания / под ред. А.Ф. Мережко. Санкт-Петербург: ВИР; 1999).

Methods of State Variety Trials for Agricultural Crops (Metodika gosudarstvennogo sortoispytaniya selskokhozyaystvennykh kultur). Moscow: Kolos; 1985. [in Russian] (Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. Москва: Колос; 1989).

Muratov A.A., Shmatok N.S., Morozov A.S. Researching the collection of spring triticale in Amur Region. In:

A.V. Senchik (ed.). *Agro-Industrial Complex: Problems and Prospects for Development. Proceedings of the International Scientific and Practical Conference. Part 1.* Blagoveshchensk; 2017. p.39-41. [in Russian] (Муратов А.А., Шматок Н.С., Морозов С.А. Изучение коллекции ярового тритикале в Амурской области. В кн.: *Агропромышленный комплекс: проблемы и перспективы развития. Материалы международной научно-практической конференции. Часть 1.* / под ред. А.В. Сенчика. Благовещенск; 2017. С.39-41).

Muslimov M.G., Kurkiev K.U., Taymazova N.S., Kovtunova N.A., Gorpinichenko S.I. The estimation of productivity of some introduced and local varieties of grain crops in the republic of Dagestan. *Grain Economy of Russia*. 2018;6(60):25-29. [in Russian] (Муслимов М.Г., Куркиев К.У., Таймазова Н.С., Ковтунова Н.А., Горпиниченко С.И. Оценка продуктивности некоторых интродуцированных и местных сортов зерновых культур в условиях республики Дагестан. *Зерновое хозяйство России*. 2018;6(60):25-29). DOI: 10.31367/2079-8725-2018-60-6-25-29

Rybas I.A. Breeding grain crops to increase adaptability (review). *Agricultural B*iology. 2016;51(5):617-626. [in Russian] (Рыбась И.А. Повышение адаптивности в селекции зерновых культур (обзор). *Сельскохозяйственная биология*. 2016;51(5):617-626). DOI: 10.15389/agrobiology.2016.5.617rus

Uspenskaja V.A., Bekish L.P., Chikida N.N. Sources of economically valuable traits for winter triticale breeding in the northwest of the Russian Federation. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2018;179(3):85-94. [in Russian] (Успенская В.А., Бекиш Л.П., Чикида Н.Н. Источники хозяйственно ценных признаков для селекции озимой тритикале на северо-западе Российской Федерации. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2018;179(3):85-94). DOI: 10.30901/2227-8834-2018-3-85-94

Zhuchenko A.A. Present and future of adaptive selection and seed breeding based on identification and systematization of plant genetic resources. *Agricultural Biology.* 2012;47(5):3-19. [in Russian] (Жученко А.А. Настоящее и будущее адаптивной системы селекции и семеноводства растений на основе идентификации и систематизации их генетических ресурсов. *Сельскохозяйственная биология*. 2012;47(5):3-19). DOI: 10.15389/agrobiology.2012.5.3rus

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

Зенкина К.В., Асеева Т.А. Элементы продуктивности коллекционного материала тритикале в условиях Среднего Приамурья. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(3):41-48. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-41-48

Zenkina K.V., Aseeva T.A. Yield components of the triticale collection material in the environments of the Middle Amur region. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(3):41-48. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-41-48

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/10.30901/2227-8834-2020-3-41-48

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
Zenkina K.V. https://orcid.org/0000-0002-5774-3580
Aseeva T.A. https://orcid.org/0000-0001-8471-0891

Источники ценных признаков для селекции голозерного ячменя

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-49-55
УДК 633.16:631.527
Поступление/Received: 13.01.2020
Принято/Accepted: 21.09.2020

Sources of characters useful for breeding in hulless barley

Н. В. ТЕТЯННИКОВ [1]*, Н. А. БОМЕ [2]

[1] *Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства, 115598 Россия, г. Москва, ул. Загорьевская, 4*
* *tetyannikovnv@ya.ru*

[2] *Тюменский государственный университет, 625003 Россия, г. Тюмень, ул. Володарского, 6*
bomena@mail.ru

N. V. TETYANNIKOV [1]*, N. A. BOME [2]

[1] *All-Russian Horticultural Institute for Breeding, Agrotechnology and Nursery, 4 Zagoryevskaya St., Moscow 115598, Russia*
* *tetyannikovnv@ya.ru*

[2] *University of Tyumen, 6 Volodarskogo St., Tyumen 625003, Russia*
bomena@mail.ru

Актуальность. Внутри вида культурного ячменя (*Hordeum vulgare* L.) особое внимание исследователей направлено на изучение голозерных форм. Их зерно характеризуется большей питательной ценностью в сравнении с пленчатыми. Однако ограничивающими факторами возделывания голозерных сортов в нашей стране считаются невысокая урожайность, низкая устойчивость к полеганию и грибным заболеваниям. Выделение перспективного исходного материала является важным условием в селекции ячменя при создании новых высокопродуктивных и адаптивных сортов в Тюменской области. **Материалы и методы.** Объектом исследования послужили 20 коллекционных образцов голозерного ячменя, относящихся к 15 разновидностям. Изучение проведено в 2015–2017 гг. в соответствии с методическими указаниями ВИР и методикой полевого опыта в изложении Б. А. Доспехова. Статистическая обработка экспериментальных данных выполнена методами корреляционного анализа. **Результаты и заключение.** Между высотой и устойчивостью растений к полеганию установлена обратная корреляция средней силы (r = –0,37), между высотой и урожайностью наблюдается прямая связь (r = 0,37). Наиболее тесная сопряженность урожайности отмечена с массой зерна с одного растения (r = 0,61) и с массой 1000 зерен (r = 0,54). Относительно высокой урожайностью в сочетании с другими признаками характеризовались C.I.10975 (к-30624, Эфиопия), 'De printempe' (к-23491, Франция), Liguleless (к-29894, Таджикистан), Schwarze Nackte Kraftborn (к-25788, Германия). Использование выделенного исходного материала в селекционных программах может способствовать созданию новых продуктивных сортов, адаптированных к агроклиматическим условиям Тюменской области.

Ключевые слова: двурядный ячмень, многорядный, селекция, всхожесть семян, исходный материал, устойчивость к полеганию, урожайность.

Background. In the present-day situation, the problems pertaining to the nutritional quality of food and feed are quite pertinent for fodder production and cereal farming. The prospect to exploit hulless barley is regarded as a promising trend of agricultural research, because its grain contains chemical compounds of higher value than those in hulled barley. However, among the limiting factors of hulless barley cultivation, low yield should be mentioned, along with poor lodging resistance and susceptibility to fungal diseases. Therefore, the task of searching for and comprehensive studying of source material for hulless barley breeding is essential as the first step towards the development of high-yielding and adaptable cultivars. **Materials and methods.** Twenty hulless barley accessions, representing 15 botanical varieties, served as the target material for the study. Their genotypes were evaluated in the northern forest steppe environments of Tyumen Province (2015–2017) according to the guidelines developed by the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR) and field trial methods by B. A. Dospekhov. Correlation analysis was used for statistical processing of experimental data. **Results and conclusion.** The degree of interactions between the studied characters was measured, and their effect size in the formation of the yield was shown for hulless barley accessions. An inverse correlation of medium strength (r = –0.37) was observed between plant height and lodging resistance, and a direct relationship between plant height and yield was recorded (r = 0.37). The yield was most closely associated with grain weight per plant (r = 0.61) and 1000 grain weight (r = 0.54). The research results showed that C.I.10975 (k-30624, Ethiopia), Liguleless (k-29894, Tajikistan), Schwarze Nackte Kraftborn (k-25788, Germany) and 'De printempe' (k-23491, France) had relatively high yield combined with a number of other useful traits.

Key words: two-rowed barley, six-rowed barley, breeding, seed germination, source material, resistance to lodging, yield.

Введение

В структуре производства зерновых культур Тюменской области ячмень занимает одно из главных мест, являясь важнейшей фуражной культурой. Для кормопроизводства и крупяной промышленности существует необходимость использования качественного и высокопитательного зерна, что является важным требованием, предъявляемым к используемым сортам (Gryaznov et al., 2016). Для дальнейшего прогресса в данном направлении, учитывая современные рыночные условия, необходимо привлекать в селекцию новые источники ценных признаков. В этом отношении несомненный интерес представляют сорта голозерного ячменя.

Согласно литературным сведениям, образование голой зерновки у ячменя контролируется геном *nud*, расположенным на длинном плече 7HL-хромосомы. При этом пленчатость зерновки является доминантным признаком (*Nud*), голозерность – рецессивным (*nud*). Предполагается, что аллель *nud* в рецессивном состоянии не обеспечивает биосинтез липидов на эпидермисе зерновки, участвующих в склеивании цветковых чешуй, вследствие чего образуется голая зерновка (Taketa et al., 2008; Yu et al., 2016).

Установлено, что зерно голозерного ячменя характеризуется высокой питательной ценностью за счет повышенного накопления белка, более высокого содержания β-глюканов, токоферолов, антиоксидантов в сравнении с пленчатыми сортами (Madakemogekar et al. 2018; Liu et al., 2018; Kaur et al., 2019). Однако, несмотря на преимущества химического состава, голозерный ячмень имеет ряд недостатков, вследствие которых он до сих пор не находит широкого распространения в нашей стране. К их числу относят невысокую урожайность, низкую устойчивость к полеганию и грибным заболеваниям (Filippov, Doroshenko, 2015; Gubanova et al., 2018). В связи с этим вопросы поиска и изучения исходного материала, адаптированного к определенным почвенно-климатическим условиям среды, являются первоочередными и не теряют своей актуальности.

Цель настоящего исследования – на основании комплексной оценки выделение ценного исходного материала голозерного ячменя, адаптированного к условиям Северного Зауралья.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено в период 2015–2017 гг. на экспериментальном участке биостанции «Озеро Кучак» Тюменского государственного университета, расположенной в Нижнетавдинском районе Тюменской области. Почва участка окультуренная дерново-подзолистая, супесчаная, кислотность (pH) – 6,6, содержание гумуса – 3,67%. Закладка опытов, проведение биометрических учетов и фенологических наблюдений за растениями выполнены в соответствии с «Методическими указаниями по изучению и сохранению мировой коллекции ячменя и овса» (Loskutov et al., 2012), методикой полевого опыта Б. А. Доспехова (Dospekhov, 2014). Описание морфологических признаков выполнено согласно «Международному классификатору СЭВ рода *Hordeum* L.» (Lekeš et al., 1983). Статистическая обработка экспериментальных данных проведена методами корреляционного анализа, с использованием программного обеспечения Statistica 7. Для средних величин были рассчитаны ошибка среднего (Sx) и коэффициент вариации (CV). Достоверность различий определена по критерию *t* Стьюдента.

Объектом исследования послужили 20 образцов голозерного ячменя из мировой коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР, Санкт-Петербург), относящиеся к двум подвидам и 15 разновидностям: *Hordeum vulgare* L. subsp. *distichon* L. convar. *nudum* (L.) A. Trof. – ячмень двурядный: var. *colonicum*, *dupliatrum*, *griseinudininerme*, *neogenes*, *nigrinudum*, *nudum*; *Hordeum vulgare* L. subsp. *vulgare*. convar. *coeleste* (L.) A. Trof. – ячмень многорядный: var. *acachicum*, *coeleste*, *cornutiforme*, *duplinigrum*, *himalayense*, *revelatum*, *tibetanum*, *trifurcatum*, *violaceum* (табл. 1).

Таблица 1. Образцы голозерного ячменя, включенные в исследование
Table 1. Hulless barley accessions included in the study

№ по каталогу ВИР	Образец	Разновидность	Происхождение
subsp. *vulgare* – многорядный			
30624	C.I.10975	*coeleste* L.	Перу
30664	C.I.11074	*trifurcatum* (Schlecht.) Wender.	Перу
30663	C.I.11073	*himalaeynse* (Ritt.) Körn.	Перу
25666	C.I.2253	*revelatum* Körn.	США
24648	Himalaya	*coeleste*, *himalayense*	США
24656	Nepal b14-7	*trifurcatum*	США
25788	Schwarze Nackte Kraftborn	*violaceum* Körn.	Германия
22306	H 3949 Sulo Coll.	*cornutiforme* Aoberg	Германия
25804	Abyssinian 1139	*duplinigrum* Körn.	Германия
23444	H 3786 Jimma7	*acachicum* Giess. et al.	Эфиопия
24817	H 3869 Gidole 2	*tibetanum* Vav. et Orl.	Ботсвана
29894	Liguleless	*himalaeynse*	Таджикистан

Таблица 1. Окончание
Table 1. The end

№ по каталогу ВИР	Образец	Разновидность	Происхождение
subsp. *distichon* L. – двурядный			
23450	H 2866 Coll.Halle EP 80	*griseinudiinerme* Giess. et al.	Эфиопия
25529	Nackte aus Erytrea	*colonicum* Orl.	Эфиопия
26595	Местный	*neogenes* Körn.	Эфиопия
22308	H 2198 Ubamer Baco	*griseinudiinerme*	Эфиопия
25008	Местный	*dupliatrum* Körn.	Эфиопия
23491	De printempe	*nudum* L.	Франция
25855	Ra 6	*nigrinudum* Vav.	Франция
21985	Athiopien-AB. 1105	*nigrinudum*	Германия

Согласно Государственному реестру селекционных достижений, допущенных к использованию в РФ, сорт ‘Омский голозёрный 1’ (var. *nudum*) на момент проведения исследования был исключен из списка сортов, рекомендованных к возделыванию, в связи с чем в качестве стандартов взяты допущенные к использованию в Тюменской области сорта пленчатого ячменя – ‘Ача’ (St1), ‘Абалак’, *nutans* (St2).

Посев проведен на делянках с учетной площадью 1 м^2, междурядье – 15 см, глубина заделки семян – 5–6 см, норма высева – 500 всхожих семян.

Результаты и обсуждение

В годы исследования влияние климатических факторов окружающей среды было разнообразно, что позволило оценить генотипы в контрастных по тепло- и влагообеспеченности условиях (табл. 2).

Таблица 2. Метеорологические условия вегетационных периодов 2015–2017 гг. (Тюмень)
Table 2. Weather conditions during the growing seasons of 2015–2017 (Tyumen)

Месяц	Среднесуточная температура воздуха, °С				Сумма осадков, мм			
	2015 г.	2016 г.	2017 г.	средняя многолетняя	2015 г.	2016 г.	2017 г.	средняя многолетняя
Май	13,4	12,2	10,2	11,3	49,3	5,8	65,2	45,0
Июнь	20,0	17,2	16,9	17,1	85,8	57,7	107,0	55,0
Июль	16,4	19,8	17,7	18,8	81,1	72,5	64,4	89,0
Август	13,1	21,2	17,0	15,8	65,6	13,8	45,0	60,0

По гидротермическому коэффициенту (ГТК) вегетационные периоды 2015 и 2017 годов были влажные (ГТК = 1,5; 1,6), условия 2016 года можно характеризовать как засушливые (ГТК = 0,7).

В условиях резко континентального климата Тюменской области особое внимание уделяется получению полноценных, дружных всходов. В одной из наших предыдущих работ в качестве критерия адаптивной способности ячменя рассматривались показатели полевой всхожести семян и выживаемости растений в течение вегетационного периода (Bome et al., 2015).

По результатам трех лет изучения полевая всхожесть семян двурядного голозерного ячменя в среднем составила 49,2%, многорядного – 52,9%, при всхожести у стандартных сортов 67,6% (‘Ача’) и 63,5% (‘Абалак’) (табл. 3). Среди двурядных образцов максимальное значение всхожести семян отмечено у H 2866 Coll.Halle EP 80 (к-23450, Эфиопия, var. *griseinudininerme*) – 58,7% (CV = 61,37%). У многорядных всхожесть изменялась от 30,5% (Nepal b14-7, к-24656, США, var. *trifurcatum*) до 72,1% (Schwarze Nackte Kraftborn, к-25788, Германия, var. *violaceum*). Хорошие адаптивные свойства продемонстрировал Schwarze Nackte Kraftborn, который, несмотря на засушливые условия вегетационного периода 2016 года, характеризовался максимальным значением всхожести семян среди изучаемых образцов – 78,8%. Большей стабильностью признака в меняющихся условиях окружающей среды характеризовались образцы Liguleless (к-29894, var. *himalayense*) со всхожестью 66,2% (CV = 10,90%); Schwarze Nackte Kraftborn, к-25788 – 72,1% (CV = 11,91%); ‘Himalaya’, к-24648 – 60,7% (CV = 14,51%); Abyssinian 1139, к-25804 – 64,5% (CV = 18,39%), о чем свидетельствуют невысокие значения коэффициента вариации.

Выживаемость растений за весь период исследования отмечалась в пределе от 62,4% (H 3949 Sulo Coll., к-22306, Германия, var. *cornutiforme*) до 97,4% (Abyssinian 1139, к-25804, Германия, var. *duplinigrum*). У сорта ‘Ача’ процент сохранившихся к уборке растений составил 92,8%, у сорта ‘Абалак’ – 93,1%. Достоверные различия со стандартами зарегистрированы у трех образцов из США (C.I.2253, к-25666, var. *revelatum* – 54,2%; Nepal b14-7, к-24656, var. *trifurcatum* – 56,4%; ‘Himalaya’, к-24648, var. *coeleste* – 64,2%). Обобщение и сопоставление данных по полевой всхожести семян и выживаемости растений в течение вегетационного периода позволяет заключить, что у большинства изученных образцов ячменя ответная реакция на факторы окружающей среды была более выражена в раннем онтогенезе.

Одним из основных требований, предъявляемых к сортам зерновых культур, является высокая устойчивость растений к полеганию (Repko et al., 2017). Ценным признаком в селекции ячменя является высота растений. Установлены и описаны аллели генов короткостебельности (*Brh1*, *uzu1.a*, *sdw1.c*, *ert-k.32*), использование которых является одним из потенциальных подходов в получении генотипов устойчивых к полеганию (Kristensen et al., 2016; Braumann et al., 2018).

В соответствии с Международным классификатором (Lekeš et al., 1983), изученные коллекционные образцы по высоте растений были распределены на следующие группы:

1 – карликовые (< 41 см);
2 – очень низкие (41–60 см);
3 – низкорослые (61–70 см);
4 – средненизкие (71–80 см);
5 – среднерослые (81–95 см);
6 – средневысокие (96–110 см);
7 – высокорослые (111–125 см);
8 – очень высокие (126–140 см);
9 – крайне высокие (> 140 см).

За годы исследования (2015–2017) по морфотипу преобладали средненизкие растения. Среди двурядных форм наблюдалась широкая вариабельность высоты растений: к среднерослым отнесено 4 образца (Nackte aus Erytrea, к-25529, var. *colonicum*; Местный, к-26595, var. *neogenes* из Эфиопии; ‘De printempe’, к-23491, var. *nudum*; Ra 6, к-25855, var. *nigrinudum* из Франции), к низкорослым – 3 (H 2198 Ubamer Baco, к-22308 и H 2866 Coll. Halle EP 80, к-23450, var. *griseinudininerme* из Эфиопии; Athiopien-AB. 1105, к-21985, var. *nigrinudum*, Германия), к средненизким – только Местный из Эфиопии (к-25008, var. *dupliatrum*). Относительно стабильным проявлением данного признака в различных по климатическим условиям вегетационных периодах характеризовались H.2198 Ubamer Baco (CV = 0,97%) и H 2866 Coll. Halle EP 80 (CV = 8,16%) с высотой растений 64,1 ± 0,4 и 62,7 ± 3,0 см соответственно.

Высота растений большинства многорядных образцов (к-30663; к-30624; к-30664; к-29894; к-24648; к-24656; к-22306; к-25788; к-25804; к-23444; к-24817) была на уровне стандартов (‘Ача’ – 72,6 ± 6,3, ‘Абалак’ – 77,9 ± 6,0 см), что характеризовало их как средненизкие. Достоверное различие отмечено только у C.I.2253 (к-25666, var. *revelatum*) с высотой 58,4 ± 6,8 см.

Признаки полегания (3–5 баллов) были отмечены во второй год исследования в фазу колошения и формирования зерна. Стабильно высокую устойчивость (9 баллов) продемонстрировали низкорослые генотипы из Эфиопии (к-22308, H 2198 Ubamer Baco; к-23450, H 2866 Coll. Halle EP 80 var. *griseinudininerme*), Местный (к-25008, var. *dupliatrum*) – 70,8 ± 13,78 см, Ra 6 (к-25855, var. *nigrinudum* из Франции) – 87,0 ± 7,68 см. Среди многорядных форм выделились C.I.11073 (к-30663, var. *himalayense*) и C.I.10975 (к-30624, var. *coeleste*) из Перу. Согласно балловому ранжированию, устойчивость к полеганию у сорта ‘Ача’ составила 8,8 балла, у сорта ‘Абалак’ – 8,4.

Корреляционный анализ полученных данных показал, что сопряженность высоты растений с устойчивостью к полеганию (2015–2017 гг.) была обратная (r = –0,37), при этом она более выражена у двурядных образцов (r = –0,50) в сравнении с многорядными (r = –0,27). Связь высоты растений с урожайностью была прямой, средней силы (r = 0,37).

В период исследования на растениях ячменя наблюдалось поражение темно-бурой листовой пятнистостью, возбудитель – *Bipolaris sorociniana* (Saac) Shoem, syn. *Helmintosporium sativum* Pammel., Kinget Bakke. В условиях 2016 года отмечалось сильное поражение растений данным заболеванием, что обусловлено благоприятными условиями для развития гриба. Слабой устойчивостью обладали 85,0% образцов, в том числе сорта-стандарты. Средней устойчивостью во все годы исследования характеризовались образцы ‘Himalaya’ (к-24648, США, var. *coeleste*); H 2198 Ubamer Baco (к-22308, Эфиопия, var. *griseinudininerme*); H 2866 Coll. Halle EP 80 (к-23450, Эфиопия, var. *griseinudininerme*).

Генотипов со стабильно высокой устойчивостью к гельминтоспориозу не выявлено.

Структура урожая состоит из ряда элементов, которые в той или иной степени определяют общую продуктивность растений. Одним из них является масса зерна с одного растения (Markova Ruzdik et al., 2015). У сортов-стандартов среднее значение массы зерна с растения составило 1,0 ± 0,3 г при колебаниях по годам от 0,5 до 1,6 г (‘Ача’) и от 0,5 до 1,5 г (‘Абалак’). Минимальное значение отмечено у двурядного образца к-25008 из Эфиопии – 0,3 ± 0,0 г. По данному признаку выделились образцы ‘De printempe’ (к-23491) – 1,8 ± 0,9 г; C.I.10975 (к-30624) – 1,5 ± 0,5 г; C.I.11074 (к-30664) – 1,5 ± 0,6 г; C.I.2253, (к-25666) – 1,2 ± 0,9 г, у которых масса зерна с растения превысила стандарты на 17,9–80,2%. О вкладе данного признака в урожайность свидетельствует высокое значение парного коэффициента корреляции (r = 0,61). Следует отметить, что у голозерных образцов двурядного ячменя взаимосвязь была выше (r = 0,91), чем у многорядного (r = 0,44).

Одним из значимых показателей технологических свойств зерна является масса 1000 зерен, тесно связанная с крупностью семян и косвенно отражающая их всхожесть и жизнеспособность (Sumina, 2017; Dekić et al., 2017). В условиях исследуемых вегетационных периодов масса 1000 зерен у двурядных образцов изменялась от 31,2 ± 2,1 г (к-22308, H 2198 Ubamer Baco) до 39,5 ± 4,2 г (к-21985, Athiopien-AB. 1105) (CV = 5,88–18,40%), у многорядных – от 21,8 ± 1,1 г (к-22306, H 3949 Sulo Coll.) до 39,8 ± 0,6 г (к-30624, C.I.10975) (CV = 2,77–22,96%), при средней массе стандартов 40,6 ± 0,7 (‘Ача’) и 42,1 ± 0,8 г (‘Абалак’).

В вегетационные периоды 2016 и 2017 г. у образцов Athiopien-AB. 1105 (к-21985, var. *nigrinudum*, Германия), Местный (к-26595, var. *neogenes*, Эфиопия), ‘De printempe’ (к-23491, var. *nigrinudum*, Франция), Ra 6 (к-25855, var. *nudum*, Франция), Liguleless (к-29894, var. *himalayense*, Таджикистан) масса семян достигала 41,0–46,7 г, что было выше или на уровне стандартов.

Корреляция (r) массы 1000 зерен с урожайностью составила 0,54. Наибольшее значение было отмечено в первый год исследования (r = 0,77), в более засушливых климатических условиях вегетационного периода 2016 года данная связь ослабевала (r = 0,25). При этом большая сопряженность отмечена у многорядных образцов (r = 0,88).

Существенным фактором, ограничивающим селекцию голозерного ячменя в нашей стране, считается невысокая урожайность в сравнении с пленчатыми сортами (Tsandekova, Neverova, 2017). Поиск и использование высокопродуктивного исходного материала является важной и актуальной задачей при создании новых сортов для конкретных почвенно-климатических условий (Belkina et al., 2017).

По усредненным данным (2015–2017 гг.), урожайность сорта 'Ача' составила 268,8 г/м^2, сорта 'Абалак' – 257,6 г/м^2. Масса зерна с единицы площади большинства голозерных форм находилась в пределе от 54,6 (к-22306, H 3949 Sulo Coll., Германия) до 187,2 г/м^2 (к-25804, Abyssinian 1139, Германия); только у четырех образцов она составила более 200 г/м^2 (см. табл. 3).

Таблица 3. Результаты комплексной оценки коллекционных образцов голозерного ячменя (среднее 2015–2017 гг.; Тюмень)

Table 3. Results of an integrated assessment of hulless barley accessions (mean for 2015–2017; Tyumen)

№ по кат. ВИР	Образец	ПВ, %	ВР, см	УП, балл	МР, г	МЗ, г	УР, г/м^2
subsp. *vulgare* – многорядный							
30624	C.I.10975	45,6±10,13	70,3±5,20	9,0	1,5±0,51	39,8±0,63•	254,2±61,57
25788	Schwarze Nackte Kraftborn	72,1±4,95	77,4±7,13	5,0	0,9±0,31	33,8±2,32•*	247,0±76,81
29894	Liguleless	66,2±4,16	72,7±4,87	7,7	0,7±0,20	37,4±2,25•	216,2±70,96
25804	Abyssinian 1139	64,5±6,85	80,0±6,35	6,3	0,7±0,28	34,1±1,78•*	187,2±71,64
30664	C.I.11074	37,5±11,63•	79,6±9,10	7,0	1,5±0,61	30,7±0,57•*	178,2±57,24
24648	Himalaya	60,7±5,08	74,4±10,70	7,0	0,7±0,26	29,1±2,69•*	130,4±52,82
24817	H 3869 Gidole 2	57,5±6,75	71,4±5,63	6,3	0,5±0,17	25,1±2,68•*	100,3±31,80•*
30663	C.I.11073	44,2±17,54	78,0±4,47	9,0	0,8±0,38	23,9±0,72•*	91,8±25,67•*
23444	H 3786 Jimma7	54,5±11,48	77,0±5,16	7,7	0,5±0,23	32,5±3,16•*	77,3±26,76•*
25666	C.I.2253	60,4±6,84	58,4±6,83*	8,3	1,2±0,89	22,8±3,02•*	65,9±27,70•*
24656	Nepal b14-7	30,5±3,98•*	75,8±14,13	5,7	0,5±0,22	23,4±1,54•*	61,6±31,94•*
22306	H 3949 Sulo Coll.	41,7±14,66	80,5±11,88	8,3	0,8±0,51	21,8±1,12•*	54,6±25,63•*
subsp. *distichon* L. – двурядный							
23491	De printempe	38,6±11,99*	86,6±7,68	9,0	1,8±0,86	38,4±1,43•	206,6±60,02
25855	Ra 6	48,6±8,10	87,0±4,93	7,0	0,9±0,22	39,2±1,47	173,5±28,64
23450	H 2866 Coll. Halle EP 80	58,7±20,79	62,7±2,95*	9,0	0,5±0,18	32,2±1,89•*	104,4±21,64•*
25529	Nackte aus Erytrea	50,5±8,64	83,3±6,24	5,0	0,5±0,27	35,6±1,20•*	102,6±40,70•*
26595	Местный	35,2±9,15	81,1±7,54	7,0	0,6±0,27	38,1±3,31	98,5±45,29•*
22308	H 2198 Ubamer Baco	57,1±16,67	64,1±0,36*	9,0	0,5±0,20	31,2±2,10•*	90,8±8,39•*
25008	Местный	58,5±13,04	70,8±13,78	9,0	0,3±0,02•*	32,4±1,42•*	59,3±7,84•*
21985	Athiopien-AB. 1105	46,1±13,88	69,9±8,27	7,0	0,4±0,16	39,5±4,19	54,8±13,50•*
St1, Ача		**67,6±7,64**	**72,6±6,33**	**8,8**	**1,0±0,33**	**40,6±0,70**	**268,8±69,83**
St2, Абалак		**63,5±7,25**	**77,9±5,98**	**8,4**	**1,0±0,29**	**42,1±0,80**	**257,6±60,87**

Примечание: различия достоверны при $p < 0.05$ *– со St1, • – со St2;
ПВ – полевая всхожесть, ВР – высота растений, УП – устойчивость к полеганию, МР – масса зерна с одного растения, МЗ – масса 1000 зерен, УР – урожайность
Note: differences are significant at $p < 0.05$ * – with St1, • – with St2; ПВ – field germination, ВР – plant height, УП – lodging resistance, МР – mass of grain per one plant, МЗ – mass of 1000 grains, УР – yield

Наибольшим потенциалом урожайности характеризовались многорядные голозерные образцы. У выделившихся генотипов высокая урожайность наблюдалась в 2017 году: C.I.10975 (к-30624, var. *coeleste*, Перу) – 329,9 г/м^2, Schwarze Nackte Kraftborn (к-25788, var. *violaceum*, Германия) – 337,4 г/м^2, Liguleless (к-29894, var. *himalayense*, Таджикистан) – 339,1 г/м^2. У двурядного образца 'De printempe' (к-23491, var. *nudum*, Франция) максимальное значение зарегистрировано в 2016 году – 323,6 г/м^2. Установлены высокие значения коэффициента вариации (CV = 22,90–89,80%), свидетельствующие о подверженности урожайности влиянию условий вегетационных периодов.

Заключение

Таким образом, по результатам комплексной оценки были выделены и предложены для селекции голозерного ячменя источники ценных признаков:

- полевая всхожесть семян – к-25788, к-25804 (Германия); к-29894 (Таджикистан); к-24648 (США);
- устойчивость к полеганию – к-22308, к-23450, к-25008 (Эфиопия); к-23491 (Франция); к-30663, к-30624 (Перу);
- масса зерна с растения – к-23491 (Франция); к-30624, к-30664 (Перу); к-25666 (США);
- масса 1000 зерен – к-21985 (Германия); к-25855 (Франция); к-26595 (Эфиопия);
- урожайность – к-30624 (Перу); к-25788 (Германия); к-29894 (Таджикистан); к-23491 (Франция).

Относительно высокой урожайностью в сочетании с другими признаками характеризовались многорядные образцы: C.I.10975 (к-30624, var. *coeleste*) из Перу, Liguleless (к-29894, var. *himalayense* Таджикистан,) и Schwarze Nackte Kraftbor' (к-25788, var. *violaceum*, Германия), а также и двурядный образец 'De printempe' (к-23491, var. *nudum*, Франция).

Корреляционный анализ исследуемых признаков в среднем за 2015–2017 гг. показал, что в формирование урожайности голозерного ячменя больший вклад вносят признаки «масса зерна с одного растения» (r = 0,61) и «масса 1000 зерен» (r = 0,54). У двурядных голозерных образцов наиболее тесная связь урожайности отмечена с массой зерна с растения (r = 0,91), у многорядных – с массой 1000 зерен (r = 0,88).

Отрицательная сопряженность наблюдалась между высотой и устойчивостью растений к полеганию (r = –0,37), при этом более выражена взаимосвязь у двурядных образцов (r = –0,50) в сравнении с многорядными (r = –0,27).

Климатические условия Тюменской области вполне благоприятны для обеспечения потенциально высокой урожайности голозерного ячменя. Выделенные образцы рассматриваем как ценный исходный материал, вовлечение которого в селекционный процесс может способствовать созданию новых адаптивных и продуктивных сортов для условий Северного Зауралья.

References/Литература

Belkina R.I., Gubanov M.V., Gubanova V.M. Yields of husked and hulless barley varieties in the northern forest-steppe of Tyumen region. *Izvestia Orenburg State Agrarian University*. 2017;5(67):54-55. [in Russian] (Белкина Р.И., Губанов М.В., Губанова В.М. Продуктивность сортов пленчатого и голозерного ячменя в северной лесостепи Тюменской области. *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. 2017;5(67):54-55).

Bome N.A., Bome A.Y., Tetyannikov N.V. Seed germination and survival of barley plants in the field as an indicator of adaptation to changing environmental conditions. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2015;4(134):15-18. [in Russian] (Боме Н.А. Боме А.Я. Тетянников Н.В. Полевая всхожесть семян и выживаемость растений ячменя как показатели адаптации к меняющимся условиям среды. *Аграрный вестник Урала*. 2015;4(134):15-18).

Braumann I., Dockter C., Beier S., Himmelbach A., Lok F., Lundqvist U. et al. Mutations in the gene of the Gα subunit of the heterotrimeric G protein are the cause for the *brachytic1* semi-dwarf phenotype in barley and applicable for practical breeding. *Hereditas*. 2018;155:10. DOI: 10.1186/s41065-017-0045-1

Dekić V., Popović V., Branković S., Terzić D., Durić N. Grain yield and yield components of winter barley. *Agriculture & Forestry*. 2017;63(1):179-185. DOI: 10.17707/AgricultForest.63.1.21

Dospekhov B.A. Methodology of field trial (with fundamentals of statistical processing of research results) (Metodika polevogo opyta [s osnovami statisticheskoy obrabotki rezultatov issledovaniy]). 5th ed. Moscow: Alyans; 2014 [in Russian] (Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). 5-е изд. Москва: Альянс; 2014).

Filippov E.G., Doroshenko E.S. Hull-less barley: the state of study and prospects of use. *Grain Economy of Russia*. 2015;(4):12-23. [in Russian] (Филиппов Е.Г., Дорошенко Э.С. Голозерный ячмень: состояние изученности и перспективы использования (обзор литературы). *Зерновое хозяйство России*. 2015;(4):12-23).

Gryaznov A.A., Chetina O.I., Kushcheva O.V. The role of hulless barley variety in the efficient fodder base formation in Chelyabinsk region. *Agro-Industrial Complex of Russia*. 2016;23(5):918-924. [in Russian] (Грязнов А.А., Четина О.И., Кущева О.В. Роль голозерного сорта ячменя в формировании эффективной кормовой базы Челябинской области. *АПК России*. 2016;23(5):918-924).

Gubanova V.M., Gubanov M.V., Gryaznov A.A. Agronomic characters of hulless barley collection. *Advances in Engineering Research*. 2018;(151):257-261. DOI: 10.2991/agrosmart-18.2018.50

Kaur H., Shaveta S., Kaur S., Sharma V., Kaur K. Hulless barley: A new era of research for food purposes. *Journal of Cereal Research*. 2019;11(2):114-124. DOI: 10.25174/2249-4065/2019/83719

Kristensen P.S., Dockter C., Lundqvist U., Lu Q., Gregersen Per L., Thordal-Christensen H., Hansson M. Genetic mapping of the barley lodging resistance locus *Erectoides-k*. *Plant Breeding*. 2016;135(4):420-428. DOI: 10.1111/pbr.12377

Lekeš J., Bareš I., Foral A., Odignal V., Ružička F., Bobek M. et al. International COMECON list of descriptors for the genus *Hordeum* L. (subgen. *Hordeum*). Leningrad: VIR; 1983. [in Russian; in English] (Лекеш Я., Бареш И., Форал А., Одигнал И., Ружичка Ф., Бобек М. и др. Международный классификатор СЭВ рода *Hordeum* L. Ленинград: ВИР; 1983).

Liu J., Li Q., Zhang Y., Deng X., Deng G., Tang Y. et al. Nutritional components, textural properties, and in vitro starch hydrolysis of steamed hulless barley bread. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*. 2018;24(5):1073-1080. DOI: 10.19675/j.cnki.1006-687x.2017.09005

Loskutov I.G., Kovaleva O.N., Blinova E.V. Guidelines for study and conservation of the world collection of barley and oats (Metodicheskiye ukazaniya po izucheniyu i sokhraneniyu mirovoy kollektsii yachmenya i ovsa). I.G. Loskutov (ed.). St. Petersburg: VIR; 2012. [in Russian] (Лоскутов И.Г., Ковалева О.Н., Блинова Е.В. Методические указания по изучению и сохранению мировой коллекции ячменя и овса / под ред. И.Г. Лоскутова. Санкт-Петербург: ВИР; 2012).

Madakemogekar A.H.., Talekar N.S., Kamboj A.D., Thakur G. Scope of hulless barley (*Hordeum vulgare* L.) as a nutritious and medicinal food: A review. *Acta Scientific Agriculture*. 2018;2(12):11-13.

Markova Ruzdik N., Valcheva D., Valchev D., Mihajlov L., Karov I., Ilieva V. Correlation between grain yield and yield components in winter barley varieties. *Agricultural Science and Technology*. 2015;7(1):40-44.

Repko N.V., Koblyanskiy A.S., Khronyuk E.V. Plant height and lodging resistance of collection varieties of winter barley. *Polythematic Online Scientific Journal of Kuban State Agrarian University*. 2017;(133):160-172. [in Russian] (Репко Н.В., Коблянский А.С., Хронюк Е.В. Высота растений и устойчивость к полеганию коллекционных сортов озимого ячменя. *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета*. 2017;(133):160-172). DOI: 10.21515/1990-4665-133-015

Sumina A.V. Influence of environmental factors on the mass of 1000 grain varieties varied in cotton conditions of Siberia. *Juvenis Scientia*. 2017;(10):4-6. [in Russian] (Сумина А.В. Влияние факторов среды на массу 1000 зерен сортов ячменя, выращенных в котловинных условиях Сибири. *Juvenis Scientia*. 2017;(10):4-6).

Taketa S., Amano S., Tsujino Y., Tomohiko S., Saisho D., Kakeda K. et al. Barley grain with adhering hulls is controlled by an ERF family transcription factor gene regulating a lipid biosynthesis pathway. *PNAS*. 2008;105(10):4062-4067. DOI: 10.1073/pnas.0711034105

Tsandekova O.L., Neverova O.A. The peculiarities of hulled barley in the evaluation of its productivity and quality of grain (review). *Grain Economy of Russia*. 2017;5(53):12-15. [in Russian] (Цандекова О.Л., Неверова О.А. Особенности голозерного ячменя в оценке продуктивности и качества зерна (обзор). *Зерновое хозяйство России*. 2017;5(53):12-15).

Yu S., Long H., Deng G., Pan Z., Liang J., Zeng X. et al. A single nucleotide polymorphism of *Nud* converts the caryopsis type of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Molecular Biology Reporter*. 2016;34(1):242-248. DOI: 10.1007/s11105-015-0911-9

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

Тетянников Н.В., Боме Н.А. Источники ценных признаков для селекции голозерного ячменя. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(3):49-55. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-49-55

Tetyannikov N.V., Bome N.A. Sources of characters useful for breeding in hulless barley. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(3):49-55. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-49-55

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/10.30901/2227-8834-2020-3-49-55

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

Tetyannikov N.V. https://orcid.org/0000-0002-8496-5365

Bome N.A. https://orcid.org/0000-0002-5467-6538

Сравнительная оценка показателей пластичности, стабильности и гомеостатичности сортов озимой ржи селекции ВИР по признаку «масса 1000 зерен»

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-56-63
УДК 631.527.14
Поступление/Received: 06.02.2020
Принято/Accepted: 21.09.2020

Comparative assessment of plasticity, stability and homeostasis based on '1000 grain weight' in winter rye cultivars developed at VIR

Н. И. АНИСЬКОВ, И. В. САФОНОВА*

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

N. I. ANISKOV, I. V. SAFONOVA*

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

Актуальность. В России озимая рожь – культура, обеспечивающая питание людей и кормление животных. Несмотря на явные преимущества ржи (высокая зимостойкость и засухоустойчивость, способность произрастать в районах с бедными почвами и неблагоприятными климатическими условиями), ее площади посева сокращаются от 29 млн га в 1913 г. до 872 тыс. га в 2019 г. Улучшить эту ситуацию можно за счет внедрения в производство сортов ржи, обеспечивающих стабильно крупное зерно в различных условиях произрастания. **Материалы и методы.** Экспериментальная часть работы проводилась в течение 2012–2017 гг. на опытных полях НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР». Объектом исследований служили образцы низкопентозановой озимой ржи, созданные во Всероссийском институте генетических ресурсов растений (ВИР). Математическая обработка осуществлена с использованием дисперсионного анализа по Б. А. Доспехову. Рассчитаны параметры адаптивности, стабильности по методикам S. A. Eberhart, W. A. Russell и Л. А. Животкова, пластичности и стабильности по методике G. C. Tai; рассчитан коэффициент мультипликативности по В. А. Драгавцеву и коэффициент гомеостатичности по В. В. Хангильдину по признаку «масса 1000 зерен». **Результаты и заключение.** Средняя масса 1000 зерен у изученных образцов составила 40,8 г и менялась от 30,0 до 48,2 г. Доля влияния на крупность зерна фактора «год испытания» составила 65,5%, а фактора «сорт» – 20,1%. Лучшие условия для образования крупного зерна сформировались в 2013, 2015 и 2017 г. (45,7; 42,5 и 41,3 г соответственно). Наиболее пластичными, стабильными и гомеостатичными по этому признаку являются образцы озимой ржи: Рушник 2 (к-11820), 'Красноярская универсальная' (к-11818), 'Берегиня' (к-11822), Ника 3 (к-11823), 'Новая Эра' (к-11814). Образцы ржи Рушник 2, Ника 3, 'Красноярская универсальная', 'Берегиня', 'Новая Эра' обладают высокой адаптивностью и могут формировать крупное зерно в широком диапазоне варьирования природных условий.

Ключевые слова: адаптивность, экологическая пластичность, изменчивость, мультипликативность, ранг, индекс условий.

Background. In Russia, winter rye is a crop that provides food for people and feed for animals. Despite the obvious advantages of rye (high winter hardiness and drought resistance, plus the ability to grow in areas with poor soils and adverse climatic conditions), its area of cultivation has been reduced from 29 million hectares in 1913 to 872,000 ha in 2019. This situation can be improved by introducing rye cultivars with a stable yield of large grain under diverse growing conditions into commercial production. **Materials and methods.** The experimental part of the work was carried out in 2012–2017, in the experimental fields of Pushkin and Pavlovsk Laboratories of VIR. The target material was the accessions of low-pentosan winter rye cultivars developed at VIR. Data processing was performed using the analysis of variance according to B. A. Dospekhov. Adaptability and stability levels were calculated using the methods by S. A. Eberhart, W. A. Russell and L. A. Zhivotkov, those of plasticity and stability using the technique by G. C. Tai, the multiplicativity coefficient according to V. A. Dragavtsev, and the coefficient of homeostasis according to V. V. Hangildin, on the basis of '1000 grain weight'. **Results and conclusion.** The 1000 grain weight in the studied accessions varied from 30.0 to 48.2 g, with the average value of 40.8 g. The effect of the 'test year' factor on grain size was estimated at 65.5%, and of the 'cultivar' factor at 20.1%. The best conditions for large grain development were observed in 2013, 2015 and 2017 (45.7, 42.5 and 41.3 g, respectively). The most plastic, stable and homeostatic winter rye accessions were: Rushnik 2 (k-11820), 'Krasnoyarskaya universalnaya' (k-11818), 'Bereginya' (k-11822), Nika 3 (k-11823), and 'Novaya Era' (k-11814). The cultivars Rushnik 2, Nika 3, 'Krasnoyarskaya universalnaya', 'Bereginya' and 'Novaya Era' demonstrated high adaptability and can produce large grain under a wide range of varying environmental conditions.

Key words: adaptability, environmental plasticity, variability, multiplicativity, rank, index of environmental conditions.

Введение

Озимая рожь – ценная культура разностороннего использования; она наиболее приспособлена к сложным природно-климатическим условиям разных регионов России (Goncharenko, 2014). Испокон веков рожь для России была не только страховой, но и стратегической культурой, без которой невозможно представить формирование продовольственной безопасности страны. Она была мощным средством обеспечения здоровья нации. Тем не менее, несмотря на биологические преимущества ржи, площади ее посева с 2001 г. стремительно сокращаются. По предварительным данным Росстата, посевные площади ржи озимой и яровой в России в 2019 г. в хозяйствах всех категорий составили 871,6 тыс. га (на озимую рожь пришлось 95,5% всех посевов, на яровую – 0,5%). После 2018 г. площади сократились на 11,1% (на 108,4 тыс. га), за 5 последних лет – на 53,6% (на 1005,2 тыс. га), за 10 лет – на 59,4% (на 1275,1 тыс. га), а по отношению к 2001 г. – на 76,0% (на 2762,6 тыс. га) (Rye cropping…, 2019). Одной из многих причин сокращения площадей и снижения производства зерна ржи является ее невысокая урожайность как следствие отсутствия адаптивных сортов, обеспечивающих высокие и стабильные урожаи зерна (Kobylyansky et al., 2015; Utkina et al., 2015). В связи с этим необходимо учитывать условия возделывания будущего сорта, а также генетическую изменчивость важнейшего элемента структуры урожая – массу 1000 зерен. Крупность зерна у озимой ржи – один из показателей, определяющих семенную и продовольственную значимость сорта. В условиях производства предпочтение отдается сортам с крупным или среднекрупным зерном. Масса 1000 зерен ограничена сортовыми особенностями растения, продолжительностью его развития, то есть сортовой спецификой в сочетании с условиями среды. Если недостаточное обеспечение влагой и высокие температуры воздуха наблюдаются в период налива зерна, то снижается масса 1000 зерен.

Согласно методическим указаниям по изучению и сохранению мировой коллекции ржи, озимая рожь по величине зерна подразделяется на 9 групп:

1 – крайне малая (< 20); 2 – очень малая (20,0–23,9);3 – малая (24,0–27,9); 4 – ниже средней (28,0–31,9); 5 – средняя (32,0–35,9); 6 – выше средней (36,0–39,9); 7 – большая (40,0–43,9); 8 – очень большая (44,0–47,9); 9 – крайне большая (> 47,9) (Kobylyansky et al., 2017). Уменьшение крупности зерна ведет к уменьшению содержания в нем крахмала и увеличению содержания белка. Что касается сравнительной оценки сортов ржи по уровню пластичности и гомеостатичности, рассчитанных по признаку «масса 1000 зерен», то таких исследований, к сожалению, в условиях Северо-Западного региона недостаточно.

Цель исследований – дать сравнительную оценку показателей адаптивности, пластичности, стабильности, мультипликативности рассчитанных по крупности зерна низкопентозановых сортов озимой ржи селекции ВИР.

Материалы и методы

Экспериментальная часть работы проводилась в течение 2012–2017 гг., на опытных полях НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР». Объектом являлись 9 образцов сортов низкопентозановой озимой ржи селекции ВИР, созданные сотрудником отдела генетических ресурсов овса, ржи и ячменя В. Д. Кобылянским и сотрудником отдела генетики О. В. Солодухиной. Полная характеристика образцов озимой ржи представлена в опубликованной ранее статье (Aniskov et al., 2019). Все изучаемые образцы относятся ко ржи диплоидной, озимой (*Secale cereale* L. var. *vulgare* Koern.) (Aniskov et al., 2019). Оценки и учеты проведены согласно методике ВИР по изучению и сохранению мировой коллекции ржи (Kobylyansky et al., 2015). Агротехника проведения опыта общепринятая. Площадь делянки – 10 м^2, повторность трехкратная. Норма высева – 350 зерен/м^2. Посев проведен селекционной сеялкой СФФК-7. Уборка проводилась в фазу полной спелости. Массу 1000 зерен определяли согласно ГОСТ 10842-89 (ИСО 520-77) (GOST…, 2009). Математическую обработку с целью выявления существенных различий проводили методом дисперсионного анализа по Б. А. Доспехову (Dospekhov, 1985).

При определении адаптивности по методике S. A. Eberhart, W. A. Russell (1966) рассчитаны: индекс условий среды (Ij), коэффициент экологической пластичности (bi), показатель стабильности (σ d^2):

$$Ij = (\Sigma\ Yij/v) - (\Sigma\ \Sigma Yij/vn) \qquad (1),$$

где Ij – индекс условий среды; Σ Σij – сумма массы 1000 зерен всех сортов за i-й год; Σ ΣYij – сумма массы 1000 зерен у всех сортов за все годы; v – количество сортов; n – число лет;

$$bi = \Sigma\ YijIj\ /\ \Sigma\ Ij^2 \qquad (2),$$

где bi – коэффициент регрессии; Σ YijIj – сумма произведения массы 1000 зерен i-го сорта за j-й год на соответствующую величину индекса условий среды; Σ Ij^2 – сумма квадратов индексов условий среды.

Среднеквадратическое отклонение (стабильность) вычисляется по формуле:

$$\sigma\ d^2 = \Sigma\sigma\ ij^2\ /\ (n-2) \qquad (3),$$

где Σσ ij^2 – сумма квадратов отклонений фактической массы 1000 зерен от теоретической; n – число лет испытания.

Метод определения пластичности (α) и стабильности (λ), предложенный G. C. Tai (1971), основан на расчете этих показателей по формулам:

$$ai = \frac{\Sigma\ Ij(\mathrm{gl})ij/(n-1)}{(MSL-MSB)/mp} \qquad (4),$$

где *Σ Ij*(gl)ij – сумма произведений эффекта взаимодействия i-сорта в j-й среде на величину эффекта среды; MSL, MSB – средние квадраты средовых эффектов и повторностей в пределах сред; n – число сред; m – количество сортов; p – число повторностей;

$$\lambda i = \frac{\Sigma\ Ij(\mathrm{gl})^2 ij/(n-1) - ai\ \Sigma\ Ij(\mathrm{gl})ij}{(m-1)MSE/mp} \qquad (5),$$

где *Σ Ij* (gl)^{2}ij – сумма квадратов эффектов взаимодействия i-сорта в j-й среде; MSE – средний квадрат ошибки.

Коэффициент мультипликативности, предложенный В. А. Драгавцевым (Dragavtsev et. al., 1984), позволяет сравнить изменчивость признака:

$$KM = \frac{Yi + bixi}{Yi} \quad (6),$$

где КМ –коэффициент мультипликативности i-го сорта; Y_i – среднее значение исследуемого признака у i-го сорта по пунктам испытания; b_i – коэффициент линейной регрессии i-го сорта; x_i – среднее значение для всех xi средних по всем сортам для каждого j-го пункта эксперимента.

В. В. Хангильдин (Hangildin, Asfondiyarova, 1977) предложил для расчета гомеостатичности использовать показатель гоместатичности (Hom):

$$Hom = \frac{\bar{x}}{cv} \quad (7),$$

где $\bar{x}$– средняя арифметическая величина массы 1000 зерен; *cv* – коэффициент вариации зерна.

Коэффициент адаптивности (КА), введенный Л. А. Животковым (Zhivotkov et al., 1994), рассчитывается как среднее массы 1000 зерен для каждого года и сорта по отношению к среднесортовой массе 1000 зерен каждого изучаемого года. При КА > 100% сорт потенциально адаптивен:

$$KA = \frac{Yij \times 100}{Yj} \quad (8),$$

где *Yij* – масса 1000 зерен i-го сорта в j-й год испытания; *Yj* – среднесортовая масса 1000 зерен года испытаний.

По данным гидрометеорологического центра (Ленинградская область, г. Пушкин), в период исследований 2012–2017 гг. сложились контрастные условия (рис. 1). Полная характеристика погодных условий в период исследований представлена в ранее опубликованной статье (Aniskov et al., 2019).

Результаты и обсуждение

Двухфакторный дисперсионный анализ данных массы 1000 зерен показал достоверность различий как по экологическим фонам (годам), так и между сортами (табл. 1). Менее значимое действие на крупность зерна оказал генотип сортов (20,1%).

Согласно данным проведенного изучения образцов озимой ржи в условиях Ленинградской области, масса 1000 зерен при сильном ее варьировании в зависимости от условий среды и наследственных особенностей составила в среднем 40,8 г за исследуемый период. Коэффициент вариации (CV) изменялся от 4,7% у сорта ‘Вавиловская’ до 16,4% у сорта ‘Красноярская универсальная’ (табл. 2).

Лучшие условия для формирования крупного зерна сложились в 2013 и 2015 г. (45,7 и 42,5 г соответственно) при индексах условий среды Ij = +4,9 и +1,7. Для характеристики реакции генотипа на изменение условий выращивания S. A. Eberhart, W. A. Russell (1966) использовали два показателя: коэффициент регрессии (bi), показывающий реакцию сорта на изменение условий среды (пластичность); степень дисперсии (σd^2), характеризующая стабильность крупности зерна (индекс стабильности) (табл. 3).

Коэффициент регрессии bi > 1 (1,6 и 1,2 соответственно) отмечен у образцов ‘Красноярская универсальная’ и Рушник 2, которые в благоприятные годы по климатическим условиям формируют высокую массу 1000 зерен. Если коэффициент регрессии близок или равен 1, то образец хорошо адаптирован и способен формировать крупное зерно в разнообразных условиях среды, что наблюдается у ржи сортов ‘Берегиня’ и ‘Новая Эра’. Образцы, у которых коэффициент регрессии значительно меньше 1, следует считать экстенсивными, так как они

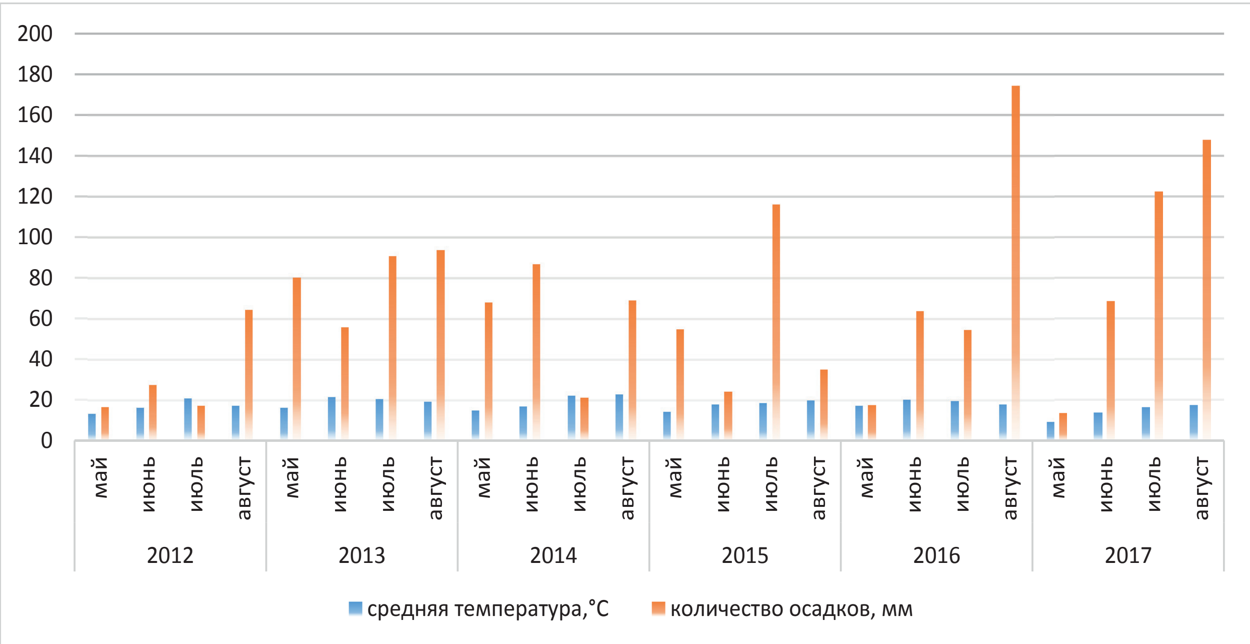


Рис. 1. Характеристика погодных условий вегетационных периодов 2012–2017 гг. по средней температуре воздуха и количеству осадков

Fig. 1. Mean air temperatures and precipitation amounts in the growing seasons of 2012–2017

Таблица 1. Результаты двухфакторного дисперсионного анализа сортов озимой ржи по показателю «масса 1000 зерен» (г. Пушкин, 2012–2017 гг.)

Table 1. Results of the two-way analysis of variance performed on winter cultivars employing the indicator '1000 grain weight' (Pushkin, 2012–2017)

Дисперсия	Сумма квадратов	Степени свободы	Среднее квадратичное	F		Доля влияния факторов, %
				$F_{факт}$	$F_{теор}$.	
Общая	765,4	53	–	–	–	–
Сорта (А)	154,2	8	19,28	7,1	3,03	20,1
Годы (В)	502,1	5	105	38,6	4,44	65,5
Остаток (ошибка)	109,1	40	2,72	–	–	–

Таблица 2. Масса 1000 зерен сортов озимой ржи (г. Пушкин, 2012–2017 гг.)

Table 2. The 1000 grain weight values in winter rye cultivars (Pushkin, 2012–2017)

Образец, № по каталогу ВИР	Масса 1000 зерен, г						Yi	± к станд.
	2012	2013	2014	2015	2016	2017		
Ильмень, к-11000	34,0	41,7	39,5	40,7	32,6	40,1	38,1	–2,2
Красноярская универсальная, к-11818	30,0	48,2	35,1	44,5	41,7	41,4	40,2	–0,1
Берегиня, к-11822	38,0	47,3	37,5	43,2	41,3	40,9	41,4	+1,1
Ника 3, к-11823	37,0	45,7	39,6	44,0	42,4	41,7	41,8	+1,5
Новая Эра, к-11814	40,0	46,6	33,6	41,4	41,4	40,7	40,6	+0,3
Рушник 2, к-11820	35,0	48,1	35,7	44,0	43,0	41,9	41,3	+1,0
Вавиловская, к-11819	39,0	43,7	39,0	42,0	42,0	42,7	41,4	+1,1
Янтарная, к-11804	40,0	45,2	39,2	42,4	42,0	41,2	41,7	+1,4
Эра, к-11640	37,5	44,5	36,4	40,2	41,8	41,4	40,3	0
Сумма	330,5	411,0	335,6	382,4	368,2	372,0	368,8	–
Yj	36,7	45,7	37,3	42,5	40,91	41,3	40,8	–
Ij	–4,1	+4,9	–3,5	+1,7	–0,1	+0,5	–	–

Примечание: Yj – среднесортовая масса 1000 зерен года испытаний; Ij – индекс условий среды
Note: Yj – mean 1000 grain weight per cultivar for each year of trials; Ij – index of environmental conditions

лишены такой важной биолого-хозяйственной особенности, как адекватный отклик на улучшение условий выращивания. Среди изученных образцов ржи к ним следует отнести сорта 'Ильмень', 'Вавиловская', 'Янтарная', 'Эра'.

О стабильности реакции образцов судили по коэффициенту стабильности (σ d^2), рассчитанному по дисперсии отклонений фактической массы 1000 зерен от теоретически ожидаемой (чем меньше коэффициент, тем выше стабильность). В изучаемом наборе наиболее стабильными оказались образцы: 'Вавиловская', 'Янтарная', 'Ильмень', 'Эра', Ника 3. У остальных изученных образцов наблюдалось варьирование крупности зерна.

Методика оценки параметров генотипической стабильности, предложенная G. C. Tai (1971), идентична разработанной S. A. Eberhart, W. A. Russell (1966) тем, что в обоих анализах предпринимаются попытки определения линейного отклика образца на воздействия внешних

Таблица 3. Параметры пластичности, стабильности, мультипликативности сортов озимой ржи (г. Пушкин, 2012–2017 гг.)

Table 3. Levels of plasticity, stability and multiplicativity in winter rye cultivars (Pushkin, 2012–2017)

Образец, № по каталогу ВИР	Показатели адаптивности					
	bi	σd^2	a_i	λi	КМ	Hom
Ильмень, к-11000	0,34	1,67	–0,66	0,50	1,36	3,81
Красноярская универсальная, к-11818	1,60	35,0	0,60	10,5	2,60	2,45
Берегиня, к-11822	0,76	7,96	–0,24	2,40	1,75	4,75
Ника 3, к-11823	0,60	5,03	–0,40	1,50	1,60	5,62
Новая Эра, к-11814	0,74	7,60	–0,26	2,30	1,74	3,94
Рушник 2, к-11820	1,20	20,2	0,20	6,10	2,19	3,37
Вавиловская, к-11819	0,26	0,97	–0,74	0,30	1,26	8,73
Янтарная, к-11804	0,30	1,30	–0,70	0,39	1,29	8,25
Эра, к-11640	0,53	4,03	–0,47	1,20	1,54	5,46

условий среды. Однако первая отличается от второй оценкой параметров, определяющих стабильность: она включает расширение стандартной математической модели, используемой для дисперсионного анализа, и определяет генетический потенциал сорта по стабилизации признака в меняющихся агроэкологических условиях.

Стабильными по G. C. Tai (1971) считается образец с характеристиками $\alpha = -1$, $\lambda = 1$, дающий очень стабильный урожай в контрастных условиях и являющийся выгодным экономически в жестких условиях. При высоком α и неизменном значении λ образец более требователен к агротехнике, и считается высокоинтенсивным. Чем выше показатели α и ниже λ, тем выше ценность образца. Как показывают результаты наших исследований, наибольшую ценность представляют образцы ‘Красноярская универсальная’ и Рушник 2, у которых крупность зерна и отзывчивость на улучшение условий выращивания сочетаются с довольно низкими показателями стабильности.

Образцы ‘Берегиня’, ‘Новая Эра’, Ника 3 при сравнительно высокой отзывчивости массы 1000 зерен на улучшение условий выращивания характеризуются сравнительно высоким уровнем варьирования стабильности. Следующую группу по своей ценности в практическом отношении составляют сорта ‘Вавиловская’, ‘Янтарная’, ‘Эра’, ‘Ильмень’, у которых крупность зерна сочетается со слабой отзывчивостью на улучшение условий при малых показателях стабильности.

При использовании коэффициента регрессии для оценки экологической пластичности может оказаться что образцы, имеющие низкий уровень признака, характеризуется меньшими коэффициентом регрессии и наоборот. Это не означает, что они имеют разную гомеостатичную систему регулирования, это может быть и следствием эффекта шкалы.

Для устранения этого недостатка В. А. Драгавцев (Dragavtsev et al., 1984) предложил коэффициент мультипликативности (КМ), который является безразмерной величиной. Чем выше числовое значение, тем сильнее изменяется крупность зерна. В этом случае сорта ‘Вавиловская’, ‘Янтарная’, ‘Ильмень’, ‘Эра’ характеризуются слабой реакцией увеличения крупности зерна, что свойственно образцам экстенсивного типа. Образцы ‘Красноярская универсальная’, Рушник 2 характеризуются высокой отзывчивостью на улучшение условий выращивания, что свойственно интенсивному типу. Адаптивность образцов ‘Берегиня’, ‘Новая Эра’ и Ника 3 характеризуется меньшей вариабельностью крупности зерна в изменяющих условиях среды.

В. В. Хангильдин (Hangildin, Asfondiyarova, 1977) связывал проявление высокой гомеостатичности (Hom) со способностью растений сводить к минимуму последствия воздействия неблагоприятных условий среды. В нашем примере высокая гомеостатичность зафиксирована у сортов ‘Красноярская универсальная’, ‘Ильмень’, ‘Новая Эра’ и образца Рушник 2. Минимальная гомеостатичность отмечена у сортов ‘Вавиловская’, ‘Янтарная’, ‘Эра’, ‘Берегиня’ и образца Ника 3.

Л. А. Животков (Zhivotkov et al., 1994) для анализа крупности зерна и определения адаптивного потенциала образцов по варьированию признака «масса 1000 зерен» использовал показатель «среднесортовая крупность зерна». В этой методике она принимается за 100%. Затем рассчитывали отношение крупности зерна каждого из испытываемых образцов к среднесортовой. Перевод абсолютных величин массы 1000 зерен в проценты позволяет сравнить поведение сортов (рис. 2).

генотип, имеющий высокий адаптивный потенциал (табл. 4). По всем параметрам наиболее высокий уровень адаптивности имели образцы Рушник 2 и 'Красно-

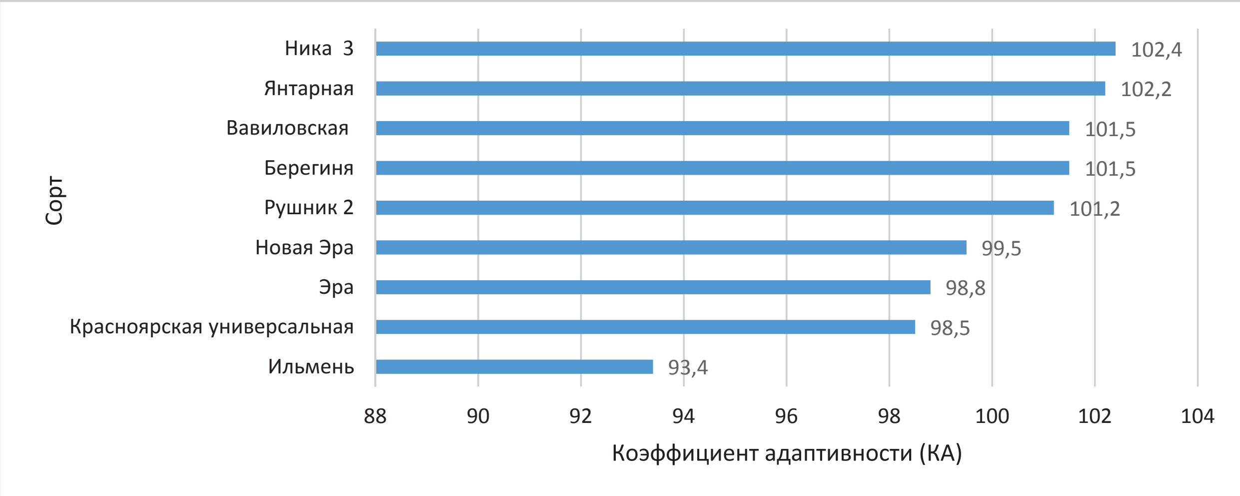


Рис. 2. Коэффициент адаптивности (КА) сортов озимой ржи

Fig. 2. Coefficient of adaptability (KA) in winter rye cultivars

Таблица 4. Ранжирование сортов озимой ржи по показателям адаптивности определенными разными способами

Table 4. Ranking of winter rye cultivars according to their adaptability levels in different ways

Сорт, № по каталогу	Ранг по							Сумма рангов
	bi	σd^2	a_i	λi	КМ	Hom	КА	
Ильмень, к-11000	7	3	7	3	7	3	8	38
Красноярская универсальная, к-11818	1	9	1	9	1	1	7	29
Берегиня, к-11822	3	7	3	7	3	5	3	31
Ника 3, к-11823	5	5	5	5	5	7	1	33
Новая Эра, к-11814	4	6	4	6	4	4	5	33
Рушник 2, к-11820	2	8	2	8	2	2	4	28
Вавиловская, к-11819	9	1	9	1	9	9	3	41
Янтарная, к-11804	8	2	8	2	8	8	2	38
Эра, к-11640	6	4	6	4	6	6	6	38

Высокий средний коэффициент адаптивности (КА) отмечен у образцов Ника 3, 'Янтарная', 'Берегиня', 'Вавиловская', Рушник 2, он составил 102,4%; 102,2%; 101,5%; 101,5%; 101,2% соответственно, низкий – у образцов 'Ильмень', 'Красноярская универсальная', 'Эра', 'Новая Эра' (93,4%; 98,5%; 98,8%; 99,5% соответственно).

Для каждого из математических показателей адаптивности применено ранжирование практической ценности конкретного признака по мере ее возрастания (ранг 1 – 9), адаптивный потенциал определяли по сумме рангов практической ценности. Невысокий числовой показатель суммы рангов характеризует сорт как

ярская универсальная' с суммой рангов 28 и 29 соответственно). К генотипам с высоким адаптивным потенциалом отнесены образцы 'Берегиня', 'Новая Эра' и Ника 3, сумма рангов которых – 31 33 и 33 соответственно.

Заключение

Результаты дисперсионного анализа подтвердили достоверность доминирующего влияния на массу 1000 зерен фактора «год испытания» (65,5%), характерного для климата Северо-Западного региона РФ.

В Ленинградской области в среднем за период исследований масса 1000 зерен составила 40,8 г. Наиболее благоприятные погодные условия для формирования повышенной крупности зерна сложились в 2013 и 2015 гг. (45,7 и 42,5 г соответственно). Индекс условий в эти годы положительный (Ij = +4,9 и +1,7 соответственно).

По результатам анализа экспериментальных данных, из 7 использованных показателей адаптивности следует обратить внимание на методы, предложенные S. A. Eberhart, W. A. Russell (1966) и В. А. Драгавцевым (Dragavtsev et al., 1984).

Наиболее адаптивными по крупности зерна из изученного набора являются образцы озимой ржи: Рушник 2, 'Красноярская универсальная', 'Берегиня', Ника 3, 'Новая Эра'.

Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0662-2019-0006 «Поиск, поддержание жизнеспособности и раскрытие потенциала наследственной изменчивости мировой коллекции зерновых и крупяных культур ВИР для развития оптимизированного генбанка и рационального использования в селекции и растениеводстве».

The research was performed within the framework of the State Task according to the theme plan of VIR, Project No. 0662-2019-0006 "Search for and viability maintenance, 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".

References/Литература

Aniskov N.I., Safonova I.V., Horeva V.I. Adaptive potential of winter rye cultivars developed at VIR in the context of their grain protein content in the environments of Leningrad Province. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2019;180(1):44-51. [in Russian] (Аниськов Н.И., Сафонова И.В., Хорева В.И. Адаптивный потенциал сортов озимой ржи селекции ВИР по показателю «содержание белка в зерне» в условиях Ленинградской области. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2019;180(1):44-51). DOI: 10.30901/2227-8834-2019-1-44-51

Goncharenko A.A. Topical issues of winter rye breeding (Aktualnye voprosy selektsii ozimoy rzhi). Moscow; 2014. [in Russian] (Гончаренко А.А. Актуальные вопросы селекции озимой ржи. Москва; 2014).

GOST 10842–89 (ISO 520–77). Cereals, pulses and oilseeds. Method for determination of 1000 kernels or seeds weight. Moscow: Standartinform; 2009. [in Russian] (ГОСТ 10842–89 [ИСО 520–77] Зерно зерновых и бобовых культур и семена масличных культур. Метод определения массы 1000 зерен или 1000 семян. Москва: Стандартинформ; 2009). URL: https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4294840/4294840036.pdf [дата обращения: 06.05.2020].

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

Dragavtsev V.A., Tsilke V.A., Reyter B.G. Genetics of productivity traits in spring wheat in Western Siberia (Genetika priznakov produktivnosti yarovoy pshenitsy v Zapadnoy Sibiri). Novosibirsk: Nauka; 1984. [in Russian] (Драгавцев В.А., Цильке В.А., Рейтер Б.Г. Генетика признаков продуктивности яровой пшеницы в Западной Сибири. Новосибирск: Наука; 1984).

Eberhart S.A., Russell W.A. Stability parameters for comparing varieties. *Crop Science*. 1966;6(1):36-40. DOI: 10.2135/cropsci1966.0011183X000600010011x

Hangildin V.V., Asfondiyarova R.R. Manifestation of homeostasis in pea hybrids (Proyavleniye gomeostaza u gibridov gorokha posevnogo). *Biologicheskiye nauki = Biological Sciences*. 1977;(1):116-121. [in Russian] (Хангильдин В.В., Асфондиярова Р.Р. Проявление гомеостаза у гибридов гороха посевного. *Биологические науки*. 1977;(1):116-121).

Kobylyansky V.D., Safonova I.V., Solodukhina O.V., Aniskov N.I. Guidelines for the study and preservation of the world collection of rye. St. Petersburg: VIR; 2015. [in Russian] (Кобылянский В.Д., Сафонова И.В., Солодухина О.В., Аниськов Н.И. Методические указания по изучению и сохранению мировой коллекции ржи. Санкт-Петербург: ВИР; 2015).

Kobylyansky V.D., Aniskov N.I., Safonova I.V., Khoreva V.I., Solodukhina O.V. Catalogue of the VIR global collection. Issue 844. Winter rye (donors and sources of valuable features of winter rye in relation to the problems of breeding). St. Petersburg: VIR; 2017. [in Russian] (Кобылянский В.Д., Аниськов Н.И., Сафонова И.В., Хорева В.И., Солодухина О.В. Каталог мировой коллекции ВИР. Выпуск 844. Озимая рожь (доноры и источники ценных признаков озимой ржи применительно к задачам селекции. Санкт-Петербург: ВИР; 2017).

Rye cropping areas, bulk harvests, and yield in Russia. Tallies for 2018 (Posevnye ploshchadi, valovye sbory i urozhaynost rzhi v Rossii. Itogi 2018 goda). Agrovestnik; 2019. [in Russian] (Посевные площади, валовые сборы и урожайность ржи в России. Итоги 2018 года. Агровестник; 2019). URL: https://agrovesti.net/lib/industries/cereals/posevnye-ploshchadi-valovye-sbory-i-urozhajnost-rzhi-v-rossii [дата обращения: 03.04.2020].

Tai G.C.C. Genotypic stability analysis and its application to potato regional trials. *Crop Science*. 1971;11(2):184-190). DOI: 10.2135/cropsci1971.0011183X001100020006x

Utkina E.I., Kedrova L.I., Shlyakhtina E.A., Shamova M.G., Parfyonova E.S. Technological features of cultivation of winter rye Falenskaya 4 under conditions of changing climate. *Agricultural Science Euro-North-East*. 2015;5(48):34-38. [in Russian] (Уткина Е.И., Кедрова Л.И., Шляхтина Е.А., Шамова М.Г., Парфенова Е.С. Технологические особенности возделывания сорта озимой ржи Фаленская 4 в условиях изменяющегося климата. *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2015;5(48):34-38).

Zhivotkov L.A., Morozova Z.A., Sekatueva L.I. Methods of detecting potential productivity and adaptability in cultivars and breeding forms of winter wheat according to their 'yield' indicator (Metodika vyyavleniya potentsialnoy produktivnosti i adaptivnosti sortov i selektsionnykh form ozimoy pshenitsy po pokazatelyu "urozhaynosti"). *Selektsiya i semenovodstvo = Plant Breeding and Seed Production*. 1994;(2):3-6. [in Russian] (Животков Л.А., Морозова З.А., Секатуева Л.И. Методика выявления потенциальной продуктивности и адаптивности сортов и селекционных форм озимой пшеницы по показателю «урожайности». *Селекция и семеноводство*. 1994;(2):3-6).

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

Аниськов Н.И., Сафонова И.В. Сравнительная оценка показателей пластичности, стабильности и гомеостатичности сортов озимой ржи селекции ВИР по признаку «масса 1000 зерен». Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(3):56-63. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-56-63

Aniskov N.I., Safonova I.V. Comparative assessment of plasticity, stability and homeostasis based on '1000 grain weight' in winter rye cultivars developed at VIR. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(3):56-63. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-56-63

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/10.30901/2227-8834-2020-3-56-63

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
Aniskov N.I. https://orcid.org/0000-0002-7819-8286
Safonova I.V. https://orcid.org/0000-0001-8138-930X

Изучение и перспективы селекционного использования яблони Недзвецкого (*Malus niedzwetzkyana* Dieck)

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-64-69

УДК 634.11:631.52+632
Поступление/Received: 28.11.2019
Принято/Accepted: 21.09.2020

Niedzwetzky's apple (*Malus niedzwetzkyana* Dieck): evaluation and breeding prospects

О. Н. БАРСУКОВА

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Майкопская опытная станция – филиал ВИР, 385746 Россия, Республика Адыгея, Майкопский район, п. Подгорный, ул. Научная, 1
semenov50@mail.ru

O. N. BARSUKOVA

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, Maikop Experiment Station of VIR, 1 Nauchnaya St., Podgorny, Maikopsky District, Republic of Adygea 385746, Russia
semenov50@mail.ru

Актуальность. Среднеазиатская яблоня Недзвецкого (*Malus niedzwetzkyana* Dieck) имеет большие перспективы в селекции новых сортов с повышенным содержанием антоциана и для создания гибридов, которые могут быть широко использованы в декоративном садоводстве. **Материалы и методика.** В коллекции Майкопской станции ВИР в настоящее время содержатся 17 различных форм яблони Недзвецкого, полученных в основном из Талгарского помологического сада в 1968 году. Фенологические наблюдения, оценку урожайности, скороплодности, устойчивости к болезням, качества плодов, декоративности и других показателей проводили согласно методическим указаниям ВИР. **Результаты и выводы.** В таблице представлены характеристики и отличительные особенности всех коллекционных образцов яблони Недзвецкого. В результате изучения выделены следующие формы *M. niedzwetzkyana* – наиболее урожайные (к-2389, к-29429, к-29428, к-29430, к-29422); крупноплодные (к-29429, к-29426); скороплодные (к-29429, к-29430, к-29422); имеющие довольно приятный кисло-сладкий вкус плодов (к-29431, к-29423, к-29427, к-2389); обладающие средней степенью устойчивости к парше листьев и плодов. Особый интерес представляют формы *M. niedzwetzkyana*, имеющие красный и темно-красный цвет мякоти плодов (к-14948, к-2389, к-13279), которые выглядят наиболее эффектно в период цветения и плодоношения. Краснопигментированные формы яблони Недзвецкого представляют большой интерес для селекции при создании сортов с повышенным содержанием антоциана в плодах. Кроме того, *M. niedzwetzkyana* и гибриды с ее участием имеют большие перспективы как ценные декоративные растения.

Ключевые слова: красный пигмент, антоциан, декоративность, устойчивость к парше листьев и плодов.

Background. Niedzwetzky's apple (*Malus niedzwetzkyana* Dieck), native to Central Asia, has excellent prospects in the development of new cultivars with high anthocyanin content and hybrids that could be widely used in ornamental horticulture. **Materials and methods.** The collection maintained at Maikop Experiment Station of VIR currently contains 17 different forms of Niedzwetzky's apple. Most of them were introduced in 1968 from the pomological garden in Talgar, Kazakhstan. Evaluation of their phenological patterns, yield, precocity of bearing, disease resistance, fruit quality, ornamentality, etc. was based on the guidelines developed at VIR. **Results and conclusion.** Characteristics and specific features for all accessions of Niedzwetzky's apple are formatted into a table. As a result of testing, the following accessions were identified: k-2389, k-29429, k-29428, k-29430 and k-29422 for their high yield; k-29429 and k-29426 for a large fruit size; k-29429, k-29430 and k-29422 for fruiting precocity; k-29431, k-29423, k-29427 and k-2389 for a pleasant sour-sweet fruit flavor, and a number of forms with medium resistance to apple leaf and fruit scab. Of special interest are the accessions with red and dark red fruit flesh color (k-14948, k-2389 and k-13279): they are most impressive in their flowering and fruiting phases. Niedzwetzky's apple accessions with red pigmentation are promising for the development of cultivars with higher anthocyanin content in fruit. Besides, *M. niedzwetzkyana* and its hybrids have good prospects as ornamental plants.

Key words: apple tree, red pigment, anthocyanin, ornamentality, leaf and fruit scab resistance.

Введение

Среди большого разнообразия среднеазиатских видов яблони особое место занимает краснопигментированная яблоня Недзвецкого (*Malus niedzwetzkyana* Dieck). В настоящее время в диком и культурном состоянии яблоня Недзвецкого встречается в районах Кульджи, Кашгара, вблизи Алма-Аты, в горах Каратау и Ферганского хребта. Было установлено, что по морфологическим и биологическим свойствам, а также по характеру распространения *M. niedzwetzkyana* является разновидностью яблони Сиверса – *M. sieversii* (Ledeb.) M. Roem. f. *niedzwetzkyana* (Dieck) Langenf. (Likhonos, 1974; Langenfeld, 1991). По данным Л. П. Симиренко (Simirenko, 1972), яблоня Недзвецкого была найдена любителем-натуралистом Е. Е. Недзвецким около станицы Талгарской на северном склоне Заилийского Ала-Тау в 1913 г. Местное название ее – «Красная Кульджинка». Затем она попала в Германию к доктору Дику, где было дано первое описание Кульджинки. Далее, как прекрасное декоративное растение она появилась во многих садах Европы и Америки, где с ее участием были созданы и распространились новые виды и формы декоративных яблонь. По мнению Л. П. Симиренко (Simirenko, 1972, c. 346), «ни один креб из нашей многочисленной коллекции не может идти в сравнение с великолепием цветов Кульджинки».

В экспедициях по Средней Азии Н. И. Вавилов обратил внимание на большое разнообразие различных видов и форм яблони. При этом некоторые из них не уступали по качеству культурным сортам. Он писал, что среди них «…также можно наблюдать любопытное яблоко Недзвецкого (*Malus niedzwetzkyana* Dieck) <…> с хорошо выраженной фиолетово-красной окраской, пронизывающей мякоть яблока, кору веток, жилки листьев; цветки у нее красные. Семена этой яблони ярко окрашены» (Vavilov, 1960, p. 352). Он подчеркнул важность использования в гибридизации среднеазиатской краснопигментированной яблони, особенно форм с повышенным содержанием антоциана. По данным Я. С. Нестерова (Nesterov, 1977), И. В. Мичурин широко использовал яблоню Недзвецкого в селекции для получения сортов с окрашенной мякотью плодов. Созданные им сорта ‘Яхонтовое’, ‘Комсомолец’ и другие заслуживают внимания как исходные формы для дальнейшей селекции.

Материалы и методы

Коллекция дикорастущих видов, разновидностей и форм яблони собрана усилиями ученых ВИР из всех центров происхождения и насчитывает на Майкопской опытной станции – филиале Всероссийского института генетических ресурсов растений (ВИР) в настоящее время 319 видообразцов, объединенных в пределах рода *Malus* Mill. по системе В. Т. Лангенфельда в секциях *Docyniopsis* C.K. Schneid, *Sorbomalus* Zabel., *Chloromeles* (Decne) Rehd., *Gymnomeles* Koehne и *Malus* (Langenfeld, 1991). Наиболее многочисленной из них является секция *Malus* (яблони настоящие), включающая 238 видообразцов. Среди них среднеазиатская яблоня Недзвецкого насчитывает 17 различных форм, полученных в основном из Талгарского помологического сада (Южный Казахстан) в 1968 году. Имеются также образцы со Среднеазиатской опытной станции ВИР (г. Ташкент, Ботаника) и другие, полученные в разные годы из других источников.

Изучение коллекционных форм *M. niedzwetzkyana*, включая фенологические наблюдения, оценку урожайности, устойчивости к болезням, декоративности, качества плодов и других показателей, проводили согласно методическим указаниям ВИР (Nesterov, 1986; Krivchenko, 1972).

Результаты и обсуждение

Коллекционные формы яблони Недзвецкого представлены в основном среднерослыми, реже высокорослыми деревьями с раскидистой или округлой формой кроны. Кора веток и древесина – красноватого цвета. Листья при распускании имеют красноватый оттенок, затем у большинства форм приобретают темно-зеленую окраску. Цветки довольно крупные, от розового до темно-пурпурного цвета. Бутоны темно-красные. Чашелистики узкие, длинные. Плоды различаются по размеру и окраске кожицы и мякоти. В таблице дана краткая характеристика и приведены отличительные признаки коллекционных форм *M. niedzwetzkyana*, включая описание морфологических и биологических особенностей, в том числе урожайности, скороплодности, декоративности и других.

В результате изучения были выделены наиболее урожайные формы (к- 2389, к-29429, к-29428, к-29430, к-29422, к-14948 и др.), некоторые из них отличаются скороплодностью (к-29429, к-29430, к-29422 и др.).

Коллекционные формы яблони Недзвецкого имеют в основном сладковатый или кисло-сладкий вкус плодов; при этом некоторые из них довольно приятны на вкус (к-29427, к-29431, к-29423, к-2389 и др.). Отмечены формы, имеющие крупные плоды (к-2388, к-2389, к-29426, к-29427). Особенно выделяется форма № 2 (к-29429), у которой диаметр плодов достигает 7 см. Особый интерес представляют образцы, имеющие красный (к-13279, к-29420, к-29422, к-29431) и темно-красный (к-14948, к-2389, к-29421) цвет мякоти плодов. Среди них особо выделяется форма к-2389, которая, кроме того, обладает высокой ежегодной урожайностью и декоративностью (цветки пурпурно-красные). Плоды довольно крупные, с приятным кисло-сладким вкусом.

Выделенные краснопигментированные формы яблони Недзвецкого могут быть непосредственно использованы при изготовлении соков и других продуктов переработки, а также служить источниками для селекции сортов с окрашенной мякотью и повышенным содержанием антоциана в плодах.

Большое внимание было уделено изучению устойчивости образцов к болезням. Яблоня Недзвецкого, как и другие среднеазиатские виды, восприимчива к болезням, особенно к парше листьев и плодов – *Venturia inoequalis* (Cooke) G. Winter. Вредоносность парши усиливается тем, что возбудитель приспособился к перезимовке не только на опавших листьях, но и на однолетних побегах в виде мицелия под корой, что способствует раннему появлению и распространению инфекции по сравнению с обычным способом перезимовки на опавших листьях с последующим половым циклом и образованием аскоспор (Barsukova, 1993). Тем не менее на общем фоне были выделены формы яблони Недзвецкого со средней степенью устойчивости к болезням (к-13279, к-29421, к-29427). В отношении других заболеваний следует отметить, что в последние годы заметно снизилось проявление и вредоносность мучнистой росы – *Phodosphaera leucotricha* (Ellis & Everh.) E.S. Salmon – не только на яблоне Недзвецкого, но и на других среднеазиатских видах. В то же время произошло значительное увеличение степени вредоносности и распространения пятнистости листьев, вызванной возбудителями *Phyllosticta mali* Prill. & Delacr. и особенно *Phyllachora pomigena* (Schwein.) Sacc. (= *Marssonina mali* (P. Henn.) Ito), которые появляются уже в средине лета и вызывают пожелтение и осыпание листьев.

Яблоня Недзвецкого заслуживает особого внимания как очень ценное декоративное растение благодаря красивому цветению и обильному урожаю темно-красных и бордовых плодов. Она пригодна для любых декоративных посадок, но особенно эффектно выглядит при посадке отдельными деревьями. Выделены наиболее декоративные формы: к-14948, к-13279, к-29426, к-29430, к-2389 и другие.

Использование яблони Недзвецкого в гибридизации привело к появлению различных гибридов, которые не уступают ей по декоративности, а некоторые значительно превосходят. Так, еще в 30-е годы прошло-

Таблица. Краткое описание коллекционных форм яблони Недзвецкого (*Malus niedzwetzkyana* Dieck)
Table. Brief description of the studied Niedzwetzky's apple forms *(Malus niedzwetzkyana* Dieck)

№ по каталогу ВИР	Название	Место и дата сбора	Описание плодов				Характерные признаки
			Диаметр (см)	Окраска		Вкус	
				кожицы	мякоти		
2389	*M. niedzwetzkyana*	Казахстан, Алма-Ата (1933)	4,6–5,0	Темно-бордовая	Темно-красная	Кисло-сладкий хороший	Дерево среднерослое, раскидистое. Цветки пурпурно-красные. Высокая урожайность. Декоративность.
13278	*M. niedzwetzkyana*	Узбекистан, Среднеазиатская ОС ВИР (1958)	3,4–4,0	Темно-бордовая	Розовая	Кисло-сладкий	Дерево среднерослое, овальное. Урожайность высокая, периодичная.
13803	*M. niedzwetzkyana*	Узбекистан, Среднеазиатская ОС ВИР (1958)	3,5-4,0	Темно-красная	Розовая	Кислый	Дерево слаборослое, овальное. Плоды удлиненно-конические.
13279	*M. niedzwetzkyana* №20	Узбекистан, Среднеазиатская ОС ВИР (1958)	3.0–3.5	Темно-красная	Красная	Кисло-сладкий	Дерево среднерослое, широкоокруглое. Цветки крупные (до 4 см в диаметре) с фиолетовым оттенком. Плоды удлиненно-конические. Декоративность.
29420	*M. niedzwetzkyana*	Казахстан, Талгар (1969)	2,8–3,2	Красная	Темно-красная	Кислый	Дерево высокорослое, конусовидное. Листья с красноватым оттенком. Цветки среднего размера с фиолетовым оттенком.
29421	*M. niedzwetzkyana* (Кульджинка ржавая)	Казахстан, Талгар (1969)	2,6–3,0	Темно-бордовая	Темно-красная	Кислый	Дерево высокорослое, раскидистое. Цветки крупные (до 4,2 см) фиолетовые. Летнее созревание.
29427	*M. niedzwetzkyana* №25	Казахстан, Талгар (1969)	4,8–5,5	Темно-бордовая	Светло-розовая	Сладкий, приятный	Дерево среднерослое, скороплодное. Цветки крупные фиолетовой окраски. Плоды удлиненно-конические, ребристые.
29424	*M. niedzwetzkyana* №7	Казахстан, Талгар (1969)	3,4–3,6	Темно-бордовая	Розовая	Кисло-сладкий	Дерево высокорослое, метловидной формы. Листья красноватые. Цветки крупные (4,0–4,2 см в диаметре), с фиолетовым оттенком.

Таблица. Окончание
Table. The end

№ по каталогу ВИР	Название	Место и дата сбора	Описание плодов				Характерные признаки
			Диаметр (см)	Окраска		Вкус	
				кожицы	мякоти		
29429	*M. niedzwetzkyana* №2	Казахстан, Талгар (1969)	5,0–7,2	Темно-красная	Светло-розовая	Сладковатый, пресный	Дерево высокорослое с широкой пониклой кроной. Цветки розовые, до 4,5 см в диаметре. Раннее созревание; скороплодность; высокая урожайность.
29430	*M. niedzwetzkyana* №16	Казахстан, Талгар (1969)	3,1–3,4	Красная	Светло-розовая	Сладковатый	Дерево среднерослое, метловидной формы, урожайное, скороплодное. Цветки красные.
29431	*M. niedzwetzkyana* №22	Казахстан, Талгар (1969)	3,5–4,5	Темно-красная	Темно-красная	Сладкокислый, приятный	Дерево высокорослое, узкое. Плоды очень ребристые.
29428	*M. niedzwetzkyana* №23	Казахстан, Талгар (1969)	3,0–3,2	Темно-бордовая	Розовая	Сладкокислый, хороший	Дерево среднерослое, урожайное. Цветки крупные, красные. Плоды очень ребристые.
29423	*M. niedzwetzkyana* №24	Казахстан, Талгар (1969)	3,1–3,4	Темно-красная	Розовая	Кисло-сладкий, приятный	Дерево высокорослое, раскидистое, урожайное, скороплодное. Плоды ребристые.
29426	*M. niedzwetzkyana* №3	Казахстан, Талгар (1969)	5,1–6,5	Темно-бордовая	Светло-розовая	Сладкий, пресный	Дерево высокорослое. Ранее созревание. Цветки темно-красные. Декоративность.
29422	*M. niedzwetzkyana* №19	Казахстан, Талгар (1969)	3,3–4,2	Темно-бордовая	Красная	Сладкокислый, хороший	Дерево среднерослое, урожайное, скороплодное. Цветки крупные, фиолетовые. Плоды ребристые.
2388	*M. niedzwetzkyana*	Уманский СХИ (1937)	4,7–5,5	Красная	Светло-розовая	Сладковатый, пресный	Дерево среднерослое, очень урожайное, скороплодное.
14948	*M. niedzwetzkyana*	Мичуринск, ВНИИГиСПР (2003)	2,2–2,6	Темно-бордовая	Темно-красная	Кислый	Дерево среднерослое, урожайное. Цветки красные, крупные. Плоды очень ребристые. Декоративность.

го века на станцию были интродуцированы несколько разновидностей яблони пурпурной – *M.* × *purpurea* (E. Barbier.) Rehder, которая была получена Е. Барбье в результате скрещивания *M. niedzwetzkyana* и описана А. Редером. Разновидности *M.* × *purpurea* являются одними из наиболее красивоцветущих в коллекции Майкопской опытной станции ВИР. Среди них:

– *M.* × *purpurea* (к-2392) – яблоня пурпурная, получена Е. Барбье в результате скрещивания *M. niedzwetzkyana*, описана А. Редером;

– *M.* × *purpurea* var. *eleyi* (E. Bean) Rehder (к-2394) – яблоня пурпурная Элея, выделена Е. Бином, описана А. Редером;

– *M.* × *purpurea* var. *pendula* Rehder (к-2396) – яблоня пурпурная пониклая;

– *M.* × *purpurea* var. *aldenhamensis* (Gibbs) Rehder (к-2393) – яблоня пурпурная альденхаменская, сеянец выделен М. Гибсом, описан А. Редером.

Это среднерослые раскидистые деревья, за исключением var. *pendula*, которая имеет слаборослую пониклую форму кроны. Листья у всех небольшие, глянцевые, с красноватым оттенком. Цветки крупные, от розовых (*M.* × *purpurea* к-2392) до фиолетово-красных (*M.* × *purpurea* var. *aldenhamensis*). Плоды мелкие (от 2 до 2,5 см в диаметре), темно-красные, на длинной темной плодоножке, со светлой или розовой мякотью. Вкус кислый. Урожайность высокая, ежегодная.

Ценными декоративными качествами обладает также полученный на Майкопской опытной станции ВИР гибрид с участием яблони пурпурной (Пармен Зимний Золотой × *M.* × *purpurea* var. *eleyi* (к-14973). Его отличает высокая ежегодная урожайность, скороплодность, слаборослость, очень красивое и бурное цветение. Плоды удлиненные, среднего размера (от 3,5 до 4,5 см в диаметре), кожица темно-бордовой окраски. Мякоть красная. Вкус кисло-сладкий, приятный.

Заключение

Таким образом, краснопигментированные формы яблони Недзвецкого представляют большой интерес для селекционного использования с целью создания новых улучшенных сортов с повышенным содержанием антоциана в плодах. Выделены коллекционные формы *M. niedzwetzkyana*, обладающие высокой урожайностью, скороплодностью, хорошим вкусом и интенсивной окраской мякоти плодов. Яблоня Недзвецкого и гибриды с ней имеют большие перспективы как ценные декоративные растения.

Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0662-2019-0004 «Коллекции вегетативно размножаемых культур (картофель, плодовые, ягодные, декоративные, виноград) и их диких родичей ВИР – изучение и рациональное использование».

The research was performed within the framework of the State Task according to the theme plan of VIR, Project No. 0662-2019-0004 "Collections of Vegetatively Propagated Crops (Potato, Fruit, Berry and Ornamental Crops, Grapes) and Their Wild Relatives at VIR: Studying and Sustainable Utilization".

References/Литература

Barsukova O.N. The gene pool of the genus *Malus* Mill. end its immunological characteristics for the purposes of breeding (Genofond roda *Malus* Mill. i yego immunologicheskaya kharakteristika dlya tseley selektsii) St. Petersburg; 1993. [in Russian] (Барсукова О.Н. Генофонд рода *Malus* Mill. и его иммунологическая характеристика для целей селекции. Санкт-Петербург; 1993).

Krivchenko V.I. (ed.) Study of disease resistance in fruit, berry and ornamental crops: guidelines (Izucheniye ustoychivosti plodovykh, yagodnykh i dekorativnykh kultur k zabolevaniyam: metodicheskiye ukazaniya). Leningrad: VIR; 1972. [in Russian] (Изучение устойчивости плодовых, ягодных и декоративных культур к заболеваниям. Методические указания / под ред. В.И. Кривченко. Ленинград: ВИР; 1972).

Langenfeld V.T. Apple-trees. Morphological evolution, phylogeny, systematics. Riga: Zinatne; 1991. [in Russian] (Лангенфельд В.Т. Яблоня. Морфологическая эволюция, филогения, география, систематика. Рига: Зинатне; 1991).

Likhonos F.D. Survey of species in the genus *Malus* Mill. (Obzor vidov v rode *Malus* Mill.). *Bulletin of Applied Botany Genetics and Plant Breeding*. 1974;52(3):16-34. [in Russian] (Лихонос Ф.Д. Обзор видов в роде *Malus* Mill. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 1974;52(3):16-34).

Nesterov Ya.S. Catalogue of the VIR global collection. Issue 209. Species and varieties of the genus of *Malus* Mill. Leningrad: VIR; 1977. [in Russian] (Нестеров Я.С. Каталог мировой коллекции ВИР. Выпуск 209. Виды и разновидности рода *Malus* Mill. Ленинград: ВИР; 1977).

Nesterov Ya.S. Study of the pome fruit collection and identification of intensive-type cultivars. Guidelines (Izucheniye kollektsii semechkovykh kultur i vyyavleniye sortov intensivnogo tipa. Metodicheskiye ukazaniya). Leningrad: VIR; 1986. [in Russian] (Нестеров Я.С. Изучение коллекции семечковых культур и выявление сортов интенсивного типа. Методические указания. Ленинград: ВИР; 1986).

Simirenko L.P. Pomology. Vol. 1. Apple tree (Pomologiya. T. 1. Yablonya). Kiev: Urozhay; 1972. [in Russian] (Симиренко Л.П. Помология. Т. 1. Яблоня. Киев: Урожай; 1972).

Vavilov N.I. Wild progenitors of the fruit trees of Turkestan and the Caucasus and the problem of the origin of fruit trees. Vol. 2. Moscow; Leningrad; 1960. [in Russian] (Вавилов Н.И. Дикие родичи плодовых деревьев азиатской части СССР и Кавказа и проблема происхождения плодовых деревьев. Т. 2. Москва; Ленинград; 1960).

Прозрачность финансовой деятельности / The transparency of financial activities

Автор не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

The author declares the absence of any financial interest in the materials or methods presented.

Для цитирования / How to cite this article

Барсукова О.Н. Изучение и перспективы селекционного использования яблони Недзвецкого (*Malus niedzwetzkyana* Dieck). Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020; 181(2):64-69. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-64-69

Barsukova O.N. Niedzwetzky's apple (*Malus niedzwetzkyana* Dieck): evaluation and breeding prospects. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(2):64-69. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-64-69

Автор благодарит рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы / The author thanks 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/10.30901/2227-8834-2020-3-64-69

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

Автор одобрил рукопись / The author approved the manuscript

Конфликт интересов отсутствует / No conflict of interest

Оценка генетического разнообразия сортов и линий гороха с помощью SSR-анализа

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-70-80
УДК 633.358:57.088.1
Поступление/Received: 25.06.2020
Принято/Accepted: 21.09.2020

К. П. ГАЙНУЛЛИНА [1, 2]*, Б. Р. КУЛУЕВ [1], Ф. А. ДАВЛЕТОВ [2]

[1] *Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН, 450054 Россия, г. Уфа, пр. Октября, 71*
* *karina28021985@yandex.ru*

[2] *Башкирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства Уфимского федерального исследовательского центра РАН, 450059 Россия, г. Уфа, ул. Р. Зорге, 19*
davletovfa@mail.ru

Genetic diversity assessment in pea cultivars and lines using the SSR analysis

K. P. GAINULLINA [1, 2]*, B. R. KULUEV [1], F. A. DALETOV [2]

[1] *Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, 71 Oktyabrya Ave., Ufa 450054, Russia*
* *karina28021985@yandex.ru*

[2] *Bashkir Research Institute of Agriculture of Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, 19 R. Zorge St., Ufa 450059, Russia*
davletovfa@mail.ru

Актуальность. Горох является основной зернобобовой культурой в Республике Башкортостан и широко распространенной во всем мире. Ключевую роль в селекции новых сортов гороха играет исходный материал, источником которого служат коллекции генетических ресурсов, отражающие фенотипическое и генотипическое разнообразие *Pisum sativum* L. Для изучения ДНК-полиморфизма различных генетических объектов, в том числе гороха, с успехом используются SSR-маркеры. Тем не менее распределение аллелей ряда микросателлитов в генотипах отдельных линий и сортов этой ценной зернобобовой культуры остается практически не исследованным. **Материалы и методы.** Проведено изучение молекулярно-генетического полиморфизма 40 образцов гороха посевного различного эколого-географического происхождения из коллекции генетических ресурсов ВИР, а также региональной селекции. Микросателлитный анализ выполнялся с использованием пяти SSR-маркеров из геномной библиотеки микросателлитов (Agrogene®, Франция). **Результаты.** Все маркеры давали четкие электрофоретические профили и позволили амплифицировать от 2 (AB53) до 9 (AA355) аллелей на локус. Было выявлено 26 аллелей, в среднем 5,2 аллелей на локус. Индекс полиморфизма варьировал от 0,39 для локуса AB53 до 0,82 для локуса AA355, в среднем составляя 0,60. Совокупность использованных в работе SSR-маркеров позволила однозначно идентифицировать каждый из изученных генотипов гороха. Вычисленные генетические расстояния были использованы для построения дендрограммы, демонстрирующей распределение генотипов в соответствии с их генетической близостью. **Заключение.** При изучении исходного материала для селекции гороха методом SSR-анализа нами были получены данные, которые позволяют расширить представление о генетической структуре коллекции и полиморфизме изученных образцов. Результаты генотипирования сортов и линий могут быть использованы для их паспортизации, а также при подборе родительских пар для гибридизации.

Ключевые слова: *Pisum sativum*, генетические ресурсы, микросателлитные маркеры, полиморфизм, генетическое сходство.

Background. Pea is the main leguminous crop in the Republic of Bashkortostan and widespread all over the world. The key role in the breeding of new pea cultivars is played by source material representing the phenotypic and genotypic diversity of *Pisum sativum* L., searched for in plant genetic resources collections. SSR markers are successfully used to study the DNA polymorphism of various genetic objects, including pea. However, the distribution of a number of microsatellite alleles in the genotypes of specific lines and cultivars of this valuable pulse crop remains practically unexplored. **Materials and methods.** Molecular genetic polymorphism was studied in 40 pea cultivar accessions of different ecological and geographical origin from the Vavilov Institute's genebank of plant genetic resources or developed at regional breeding centers. Microsatellite analysis was performed using 5 SSR markers from the genomic library of microsatellites (Agrogene®, France). **Results.** All markers delivered good electrophoretic profiles and helped to amplify a number of alleles per locus varying from 2 (AB53) to 9 (AA355). The total number of alleles was 26, while the average number of alleles per locus was 5.2. The polymorphism information content (PIC) varied from 0.39 for locus AB53 to 0.82 for locus AA355, with the mean value of 0.60. The set of SSR markers used in the work made it possible to individualize each of the studied pea genotypes. The measured genetic distances were used to draw a dendrogram showing the distribution of genotypes according to their genetic relationship. **Conclusion.** Through studying the source material for pea breeding by the SSR analysis the data were obtained that provide additional information about the genetic structure of the collection and the polymorphism of the studied cultivar accessions. The results of genotyping pea cultivars and lines can be used for their genetic identification or to select parental pairs for hybridization.

Key words: *Pisum sativum*, genetic resources, microsatellite markers, polymorphism, genetic relationship.

Введение

Горох посевной (*Pisum sativum* L.) – широко распространенная во всем мире зернобобовая культура, которая является одним из главных источников растительного белка (Davletov, 2008; Dyachenko et al., 2014). В России горох успешно выращивают в разных почвенно-климатических условиях: на севере – до приполярной зоны, а на юге, западе и востоке – до государственных границ нашей страны. Это одна из культур, имеющая значительный высотный предел распространения в России – до 2000–2480 м н. у. м. (Shelepina, Shchurov, 2010). Ареал и зоны возделывания гороха свидетельствуют о его большой экологической пластичности (Davletov et al., 2014). Включение гороха в севообороты стало важным фактором энергосбережения, поскольку позволяет увеличить объемы производства зерна, богатого белком, как для продовольственных, так и для кормовых целей, а также повысить плодородие почв благодаря симбиозу с клубеньковыми бактериями, способными фиксировать атмосферный азот (Popolzukhin et al., 2016).

Агроклиматические условия Республики Башкортостан (РБ) способствуют получению зерна гороха с хорошими товарными качествами, поэтому горох на данной территории по праву считается традиционной культурой, а история его возделывания начинается еще в первой половине XIX века. В 70–80-е гг. XX столетия площади посевов гороха в республике были максимальными и составляли 290–300 тыс. га. В последние годы посевные площади гороха сократились до 55–60 тыс. га (Gainullina, Davletov, 2018). Важным резервом увеличения производства гороха является селекция (Govorov, 1937; Makasheva, 1979; Lihacheva, Gimaletdinova, 2014). Причем существенная роль в селекции новых высокопродуктивных сортов гороха отводится исходному материалу, принадлежащему к различным эколого-географическим группам, в значительной степени различающимся по устойчивости к абиотическим и биотическим факторам среды, продолжительности вегетационного периода, продуктивности (Davletov et al., 2011). На протяжении многих лет в Чишминском селекционном центре по растениеводству (пгт. Чишмы, РБ) используется принцип подбора родительских пар методом контрастных признаков, в основе которого лежит генетическая отдаленность (Davletov, Gainullina, 2011). Применение современных методов молекулярной генетики позволяет снизить трудоемкость селекционной работы, сократить время анализа и дополнить результаты полевой оценки генетического разнообразия образцов, используемых в качестве исходного материала для селекции гороха.

Как показано рядом исследований, одними из удобных ДНК-маркеров для выявления генетического полиморфизма являются микросателлиты, которые представляют собой простые тандемно повторяющиеся последовательности (Simple Sequence Repeat, SSR), состоящие из мономеров длиной от 1 до 6 пар оснований. При этом для многих культурных растений установлено, что динуклеотидные повторы встречаются в их геномах чаще остальных (Zhang et al., 2007; Qu, Liu, 2013). Как правило, микросателлиты относятся к эухроматиновой части генома, и темпы их мутирования очень высоки, что обусловливает существование множественных кодоминантных аллелей (Tautz, 1989; Sulimova, 2004). В настоящее время имеются данные о распространенности микросателлитов в геномах различных видов растений, особенностях их локализации в кодирующих и некодирующих участках. Работы по изучению молекулярно-генетического полиморфизма разных видов культурных растений с помощью микросателлитных маркеров активно ведутся как в России, так и за рубежом (Awadalla, Ritland, 1997; Guyomarc'h et al., 2002; Abdel-Mawgood et al., 2006; Guchetl et al., 2007; Boronnikova, 2009; Khlestkina, 2013). В геноме гороха посевного также было обнаружено большое число микросателлитных локусов, создана геномная библиотека микросателлитов Agrogene® (Moissy Cramayel, Франция), однако прогресс в разработке эффективных микросателлитных маркеров и маркер-ориентированной селекции значительно замедляется из-за большого размера генома гороха (4,45 Гб), превосходящего размер других модельных генетических объектов из числа бобовых – люцерны усеченной (*Medicago truncatula* Gaertn.) и сои (*Glycine max* (L.) Merr.) – в 9 и 4 раза соответственно (Yang et al., 2015). Остается практически не исследованным распределение аллелей микросателлитных локусов в генотипах отдельных линий и сортов гороха, что ограничивает практическое применение SSR-маркеров (Loridon et al., 2005). В то же время существует необходимость идентификации ценных и перспективных образцов гороха различного эколого-географического происхождения, что обеспечит правильный подбор родительских пар при планировании скрещиваний, сократит временные затраты на создание новых сортов и повысит эффективность генетического прогнозирования и селекции. Кроме того, решение данной проблемы будет способствовать сохранению генофонда гороха, выявлению филогенетических связей, прогрессу в картировании хромосом, паспортизации, контроле генетической чистоты сортов и линий, оценке уровня гибридности, контроле происхождения семенного материала, защите авторских прав селекционеров.

Был проведен ряд исследований по вопросу возможности применения SSR-маркеров для гороха, который подтверждает их высокую эффективность для определения генетического разнообразия и степени генетического родства, идентификации и паспортизации сортов и линий данной культуры (Dribnokhodova, Gostimsky, 2009; Jain et al., 2014). Также микросателлитные маркеры успешно применяются для поиска ассоциаций с хозяйственно ценными признаками. Так, например, более 100 анонимных SSR-маркеров применяли для поиска ассоциаций с содержанием минеральных веществ в семенах гороха (Ma et al., 2017). По SSR-маркерам, фланкирующим гены устойчивости к бурой ржавчине, были идентифицированы генотипы сортов гороха, отличающихся по степени восприимчивости к данному патогену (Singh et al., 2015). Тем не менее до сих пор не определен набор микросателлитов для генетической идентификации сортов и линий гороха различного географического происхождения и направления использования (зернового, овощного, кормового), поэтому любые исследования SSR-маркеров гороха, в том числе подразумевающие генотипирование сортов региональной селекции, представляются актуальными. В связи с этим *целью исследования* стало изучение генетического полиморфизма сортов и линий гороха посевного различного эколого-географического происхождения, в том числе районированных в агроклиматических условиях Предуральской степной зоны Республики Башкортостан, по микросателлитным маркерам.

Материалы и методы

Исследования проводились в 2018–2019 гг. Полевые опыты закладывались в лаборатории селекции и семеноводства зернобобовых культур Чишминского селекционного центра по растениеводству Башкирского научно-исследовательского института сельского хозяйства Уфимского федерального исследовательского центра РАН (НИИСХ УФИЦ РАН). Анализ молекулярно-генетического полиморфизма проводился в лаборатории геномики растений Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН (ИБГ УФИЦ РАН).

Материалом для исследования послужили 25 образцов гороха посевного из коллекции генетических ресурсов растений Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), а также 8 сортов и 7 линий селекции Башкирского НИИСХ Уфимского федерального исследовательского центра РАН (НИИСХ УФИЦ РАН), представленных в таблице 1. Посев в коллекционном питомнике проводили селекционной сеялкой СКС-6-10. Площадь делянки – 3 м^2. Площадь питания растений – 20 × 5 см.

Данные о продолжительности вегетационного периода, массе семян с растения приведены на основе результатов фенологических наблюдений и структурного анализа образцов в 2017–2019 гг. По каждому сорту или линии после уборки отбирали пробные снопы. После просушки снопов проводили анализ 20 растений каждого сорта или линии по хозяйственно ценным признакам. При проведении фенологических наблюдений отмечали дату всходов, цветения и полной спелости. За начало каждой фазы принимали день, когда в нее вступают 10–15% растений, а за полное наступление фазы – 75% растений. На основании полученных данных по каждому образцу определяли продолжительность полного вегетационного и межфазных периодов.

Молекулярно-генетический анализ образцов гороха проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) по SSR-локусам AA5, AA200, AA255, AA355, AB53, AD61, D21, взятым из геномной библиотеки микросателлитов Agrogene® (Moissy Cramayel, Франция). В дальнейшем локусы AA5 и AD61 были исключены из исследования из-за низкой воспроизводимости результатов. Семена гороха проращивали в чашках Петри. ДНК выделяли из 5–7-дневных проростков с помощью набора Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, Литва). При выделении ДНК использовали по 96–100 мг гомогенизированных тканей проростков. Для выявления возможного внутрисортового полиморфизма анализировали по пять растений каждого сорта или линии. ПЦР проводили в амплификаторе T-100 (Bio-Rad Laboratories, США). Конечный объем реакционной смеси составлял 20 мкл и содержал 1 мкл раствора тотальной геномной ДНК, 7,5 мкл раствора Dream Taq™ PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific, Литва), по 2 мкл каждого из пары праймеров («Евроген», Россия) и 7,5 мкл стерильной деионизированной воды.

Амплификация проводилась по следующей программе: начальная денатурация при 94°C – 4 мин; 35 циклов: денатурация при 94°C – 30 с, отжиг праймеров при Tm ± 2°C – 30 с, элонгация при 72°C – 1 мин; конечная элонгация при 72°C – 10 мин. Температуру плавления праймеров (Tm) определяли с помощью программы PrimerSelect (DNAStar, США). ПЦР с каждым образцом по каждой паре праймеров проводили не менее трех раз.

Продукты амплификации разделяли методом вертикального электрофореза в камере VE-20 («Хеликон», Россия) в 10% полиакриламидном геле в течение 4–6 часов при напряжении 400 В. Визуализацию и документирование результатов электрофореза осуществляли при помощи трансиллюминатора ECX-F15M (Vilber Lourmat, Франция) и видеосистемы «Взгляд» («Хеликон», Россия) с помощью программного обеспечения Gel Imager-2.

Информативность изученных SSR-маркеров оценивали по величине PIC (Polymorphism Information Content). Кластерный анализ проводили методом ближайшего соседа путем вычисления матрицы нормированных евклидовых расстояний с помощью программы StatSoft® STATISTICA 13.3.

Результаты

В результате молекулярно-генетического исследования 40 образцов гороха посевного методом SSR-ПЦР нами были получены данные по аллельному состоянию пяти микросателлитных локусов (AA200, AA255, AA355, AB53, D21). На рисунке 1 представлена электрофореграмма продуктов амплификации локуса AA355. Все проанализированные образцы отличались уникальным сочетанием аллелей, что дало возможность использовать рассмотренные в работе маркеры для идентификации изученной выборки.

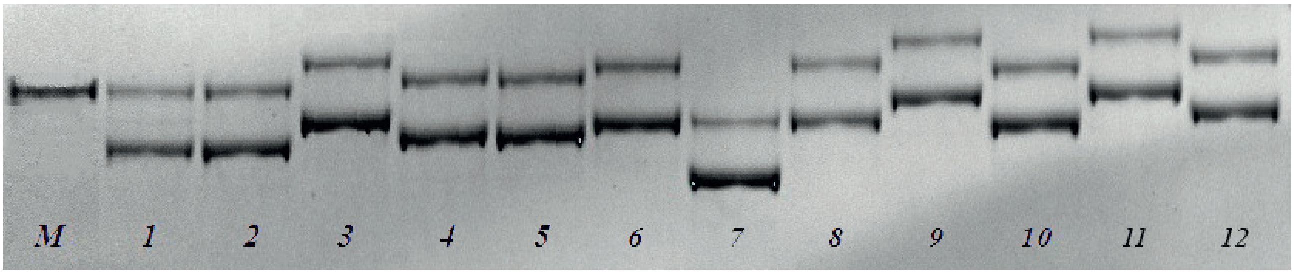


Рис. 1. Электрофоретические спектры сортов и линий гороха, полученные при амплификации SSR-локуса AA355:
M – маркер GeneRuler™ 50 bp DNA Ladder, фрагмент 200 пар нуклеотидов;
1 – Чарльстон; **2** – к-7779; **3** – к-6299; **4** – к-7992; **5** – к-6753; **6** – Л-29477; **7** – к-8750; **8** – Флагман; **9** – к-7044; **10** – к-6017; **11** – к-8500; **12** – к-6548

Fig. 1. Electrophoretic patterns of pea cultivars and lines produced by amplification of SSR locus AA355:
M – GeneRuler™ 50 bp DNA Ladder, 200 bp fragment;
1 – Charlston; **2** – k-7779; **3** – k-6299; **4** – k-7992; **5 –** k-6753; **6** – L-29477;
7 – k-8750; **8** – Flagman; **9** – k-7044; **10** – k-6017; **11** – k-8500; **12** – k-6548

Таблица 1. Характеристика изученных сортов и линий гороха
Table 1. Characteristics of the studied pea cultivars and lines

Сорт, линия, № по каталогу ВИР / Cultivar, line, VIR catalogue number	Происхождение / Origin	Тип листа / Leaf type	Осыпаемость семян / Seed shattering	Продолжительность периода вегетации (среднее ± стандартное отклонение), сутки / The growing season duration (mean ± standard deviation), days	Масса семян с растения (среднее ± стандартное отклонение), г Seed weight per plant (mean ± standard deviation), g
Ирэндек	Башкортостан	листочковый	осыпающиеся	60,7 ± 2,6	2,1 ± 0,2
Кормовой 5	Башкортостан	листочковый	неосыпающиеся	61,0 ± 2,9	2,6 ± 0,4
Памяти Хангильдина	Башкортостан	усатый	неосыпающиеся	61,7 ± 2,6	3,3 ± 0,3
Чишминский 75	Башкортостан	листочковый	неосыпающиеся	61,0 ± 2,3	3,8 ± 1,3
Чишминский 80	Башкортостан	листочковый	неосыпающиеся	60,3 ± 3,2	3,3 ± 0,5
Чишминский 95	Башкортостан	листочковый	неосыпающиеся	61,3 ± 2,3	3,4 ± 0,3
Чишминский 229	Башкортостан	листочковый	неосыпающиеся	63,0 ± 3,1	4,1 ± 0,2
Шихан	Башкортостан	листочковый	неосыпающиеся	60,7 ± 2,6	3,2 ± 0,5
Л-26742 ((Уладовский юбилейный × Шихан) × Шихан)	Башкортостан	усатый	неосыпающиеся	62,0 ± 2,6	3,2 ± 0,5
Л-27262 (к-7779 × Труженик)	Башкортостан	усатый	неосыпающиеся	60,7 ± 3,0	2,8 ± 0,2
Л-29477 (Усач × Кормовой 5)	Башкортостан	усатый	неосыпающиеся	59,3 ± 2,4	1,8 ± 0,4
Л-29825 (Л-27264 × Кормовой 5)	Башкортостан	усатый	неосыпающиеся	59,7 ± 2,6	2,4 ± 0,8
Л-29865 (Усач × Чишминский 95)	Башкортостан	усатый	неосыпающиеся	59,3 ± 2,6	2,2 ± 0,7
Л-30346 (Чишминский 229 × Л-27266)	Башкортостан	усатый	неосыпающиеся	60,0 ± 2,5	2,3 ± 0,5
Л-30735 (Л-26742 × Чишминский 80)	Башкортостан	листочковый	неосыпающиеся	61,2 ± 2,6	3,2 ± 0,3
Зеленозерный 1	Воронежская обл.	листочковый	осыпающиеся	62,7 ± 2,4	3,2 ± 0,4
Флаванда	Кировская обл.	листочковый	осыпающиеся	62,0 ± 2,6	3,2 ± 0,7
Флагман	Самарская обл.	листочковый	осыпающиеся	61,0 ± 2,3	2,3 ± 0,5
к-8714	Адыгея	усатый	неосыпающиеся	61,3 ± 2,3	2,4±0,5
Неосыпающийся 1	Украина	листочковый	неосыпающиеся	61,5 ± 2,4	3,0±0,4

Таблица 1. Окончание
Table 1. The end

Сорт, линия, № по каталогу ВИР / Cultivar, line, VIR catalogue number	Происхождение / Origin	Тип листа / Leaf type	Осыпаемость семян / Seed shattering	Продолжительность периода вегетации (среднее ± стандартное отклонение), сутки / The growing season duration (mean ± standard deviation), days	Масса семян с растения (среднее ± стандартное отклонение), г Seed weight per plant (mean ± standard deviation), g
Приекульский 380	Латвия	листочковый	неосыпающиеся	64,7 ± 2,2	2,1 ± 0,4
Топаз	Украина	листочковый	осыпающиеся	61,7 ± 2,6	3,3 ± 0,3
Труженик	Украина	листочковый	неосыпающиеся	61,0 ± 2,9	3,0 ± 0,1
Усатый 90	Украина	усатый	неосыпающиеся	62,3 ± 2,7	2,5 ± 0,3
Усач	Украина	усатый	неосыпающиеся	61,3 ± 2,6	2,7 ± 0,3
Харвус 1	Украина	усатый	неосыпающиеся	61,7 ± 2,6	2,7 ± 0,2
Чарльстон	Англия	усатый	осыпающиеся	64,0 ± 0,0	3,2 ± 0,0
к-5073	Нидерланды	листочковый	осыпающиеся	62,3 ± 2,5	2,6 ± 0,5
к-6017	Франция	листочковый	осыпающиеся	64,3 ± 3,3	2,0 ± 0,4
к-6299	Марокко	листочковый	осыпающиеся	64,7 ± 3,0	2,2 ± 0,2
к-6548	Индия	листочковый	осыпающиеся	61,7 ± 3,0	2,2 ± 0,3
к-6753	Чехия	листочковый	осыпающиеся	60,0 ± 2,6	3,3 ± 0,5
к-7044	Ливия	листочковый	осыпающиеся	63,3 ± 3,3	2,0 ± 0,1
к-7779	Англия	многократно непарноперистый	осыпающиеся	62,0 ± 2,6	2,8 ± 1,1
к-7899	Дания	листочковый	осыпающиеся	62,6 ± 2,6	2,8 ± 0,4
к-7992	Корея	листочковый	осыпающиеся	61,0 ± 2,1	3,0 ± 0,3
к-8289	Нидерланды	усатый	осыпающиеся	63,3 ± 3,3	2,8 ± 0,5
к-8500	Белоруссия	листочковый	неосыпающиеся	61,7 ± 3,0	3,0 ± 0,6
к-8750	Португалия	листочковый	осыпающиеся	61,3 ± 2,9	3,3 ± 0,3
к-8814	США	листочковый	осыпающиеся	62,0 ± 2,6	3,0 ± 0,3

Всего в результате амплификации пяти микросателлитных локусов было выявлено 26 аллелей, в среднем 5,2 аллелей на локус, что согласуется с литературными данными о высоком уровне полиморфизма SSR-маркеров (Loridon et al., 2005). Число аллелей, амплифицированных в каждом из локусов, варьировало от 2 (AB53) до 9 (AA355).

Также для исследованных SSR-локусов был рассчитан индекс полиморфизма, который составлял в среднем 0,60 и в зависимости от локуса варьировал от 0,39 (AB53) до 0,82 (AA355). Считается, что чем больше величина PIC для данного локуса, тем информативнее оказывается он в качестве маркера для оценки генетического разнообразия и сортовой идентификации. Принята следующая градация величин PIC: при PIC > 0,5 локус очень информативен, при 0,5 > PIC > 0,25 достаточно информативен и при PIC < 0,25 наименее информативен (Botstein et al., 1980). В соответствии с этой классификацией в наших исследованиях наиболее информативными оказались микросателлитные локусы AA255 (PIC = 0,57), AD61 (PIC = 0,70), AA5 (PIC = 0,70), D21 (PIC = 0,77), AA355 (PIC = 0,82).

На основе полученных данных молекулярно-генетического исследования образцов гороха посевного был проведен кластерный анализ методом ближайшего соседа путем вычисления матрицы нормированных евклидовых расстояний и построена дендрограмма (рис. 2), отражающая генетическое разнообразие и демонстрирующая характер группирования изученных образцов.

Обсуждение результатов

Для интерпретации полученной в ходе работы дендрограммы были использованы знания о происхождении образцов и их оценке по морфобиологическим и хозяйственно ценным признакам. В основном нам были доступны родословные сортов и линий местной селекции, что позволило проанализировать их взаимное расположение на дендрограмме. В первую очередь стоит отметить изолированность зарубежного образца к-5073 из коллекции генетических ресурсов гороха ВИР – единственного сорта овощного направления использования (‘Rondo’) среди изученных нами в данной работе, выведенного в Нидерландах и широко распространенного в этой стране, а также в Бельгии и Франции 1940–1950-х гг., где он оказался самым надежным и самым продуктивным сортом (De Haan, 1954). Сложнее объяснить обособленность линии местной селекции Л-29477, находящейся в составе группы, которая

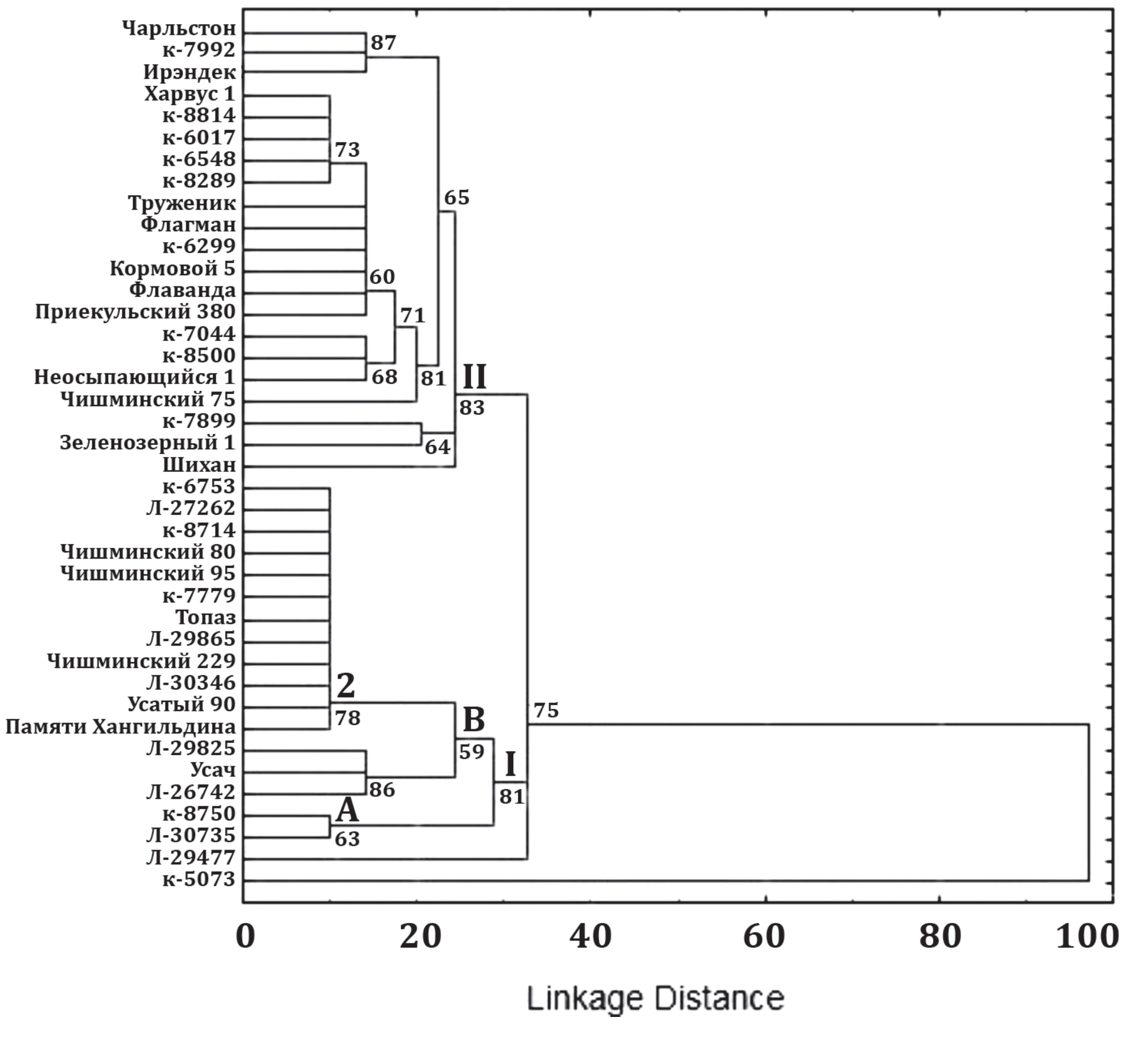


Рис. 2. Дендрограмма генетического сходства 40 сортов и линий гороха на основе данных SSR-анализа (приведены значения bootstrap-поддержки, превышающие 50)

Fig. 2. A dendrogram showing the genetic relationships among 40 pea cultivars and lines based on the data of the SSR analysis (bootstrap support values greater than 50 are shown)

включает оставшиеся 39 образцов, но вместе с тем отделившейся от двух больших кластеров I и II, содержащих 17 и 21 образец соответственно. В то же время данная линия располагается по соседству с кластером I, представленным преимущественно близкими ей сортами и линиями, также выведенными в Чишминском селекционном центре по растениеводству. В кластер I входит и зарубежный сорт ‘Усач’, выбранный в качестве материнской формы при создании линии Л-29477 (см. рис. 2).

В целом большой кластер I (см. рис. 2) включает в себя десять из пятнадцати изученных образцов местной селекции. В данную группу входят несколько зарубежных образцов: ‘Усач’, который был использован в качестве материнского компонента при создании линий Л-29865 (в качестве отцовского компонента выступал сорт ‘Чишминский 95’, находящийся также в кластере I) и в качестве отцовского компонента при выведении сорта ‘Памяти Хангильдина’ (материнский компонент представлен сортом ‘Чишминский 95’); сорт ‘Усатый 90’, близкий по ряду морфологических и хозяйственно ценных признаков (и, предположительно, по родословной) сорту ‘Усач’; ‘Топаз’, являющийся материнской формой высокопродуктивного сорта местной селекции ‘Чишминский 95’ (отцовская форма – сорт ‘Шихан’); к-7779, имеющийся в родословной линии Л-27262. Также в большом кластере I располагается линия Л-30735 и ее родители: Л-26742 и ‘Чишминский 80’. Сорт ‘Чишминский 229’, участвовавший в создании линии Л-30346, находится по соседству с ней в одном минорном кластере IB2, отмеченном на дендрограмме.

Кроме того, кластер I объединил семь из восьми высокопродуктивных образцов и шесть из девяти наиболее скороспелых. Еще один скороспелый образец – линия местной селекции Л-29477 – располагается удаленно от больших кластеров I и II, но тяготеет к кластеру I. Указанная линия также является одной из четырнадцати исследованных нами усатых форм. Еще девять образцов безлисточкового морфотипа сосредоточились непосредственно в большом кластере I.

Большой кластер II (см. рис. 2) включает в себя в основном образцы инорайонной отечественной и зарубежной селекции, большинство из которых созданы и адаптированы к возделыванию в условиях от умеренно-континентального до субтропического и тропического климата. Также в кластер II вошли три сорта местной селекции ‘Ирэндек’, ‘Шихан’, ‘Чишминский 75’, созданные в Чишминском селекционном центре на начальных этапах селекции с привлечением исходного материала зарубежного происхождения. Вероятно, их положение на дендрограмме среди изученных нами зарубежных и инорайонных отечественных образцов не является случайным. Так, например, местный сорт ‘Шихан’ был создан на основе зарубежного сорта ‘Приекульский 380’, находящегося с ним в одной большой группе (кластер II). Сорт ‘Чишминский 75’ и его родительские формы ‘Неосыпающийся 1’ и ‘Ирэндек’ тоже располагаются в кластере II, причем первые два сорта в непосредственной близости друг от друга. Кроме того, известно (Davletov, 2008), что в родословной сорта ‘Чишминский 75’ и его материнской формы ‘Ирэндек’ присутствовали сорта зарубежной селекции ‘Торсдаг’ (Швеция) и ‘Нотс-Эксцельсиор’ (США). Укосно-зерновой сорт ‘Кормовой 5’, также входящий в кластер II, был выведен непрерывным индивидуальным отбором из сорта ‘Чишминский 75’, родословная для которого приведена выше (Davletov, 2008).

Большинство (тринадцать из восемнадцати) изученных нами образцов гороха с осыпающимися семенами (ген *Def*) объединены в большом кластере II (см. рис. 2).

Заключение

Таким образом, нами впервые в Республике Башкортостан было проведено изучение сортов и линий гороха различного эколого-географического происхождения с использованием полиморфных микросателлитных маркеров AA200, AA255, AA355, AB53, D21. Была подтверждена высокая эффективность данных маркеров для исследования генетического полиморфизма гороха посевного. В результате генотипирования 40 образцов гороха была получена база данных (табл. 2) по аллельным состояниям исследованных SSR-маркеров, которая может быть использована для генетической паспортизации.

Таблица 2. Результаты генотипирования изученных сортов и линий гороха

Table 2. Results of genotyping the studied pea cultivars and lines

Сорт, линия, № по каталогу ВИР / Cultivar, line, VIR catalogue number	SSR-маркер / SSR marker				
	AA 200	AA 255	AA 355	AB 53	D 21
Чишминский 95	C, D	A, B	D, I	A, B	A, E
Ирэндек	C	C	E, H	A, B	H
Кормовой 5	D	B, C	E, F	A, B	F
Памяти Хангильдина	B, D	B	E, I	A, B	A
Чишминский 75	C, D	C	E, I	B	F, H
Чишминский 80	D	A, B	A, D	A, B	E, H
Чишминский 229	D	B, C	D, I	B	F, H
Шихан	C	A, C	A, D	B	E
Л-26742	B, C	A, C	D, I	B	B, E

Таблица 2. Окончание
Table 2. The end

Сорт, линия, № по каталогу ВИР / Cultivar, line, VIR catalogue number	SSR-маркер / SSR marker				
	AA 200	AA 255	AA 355	AB 53	D 21
Л-27262	D	B, C	E, H	A, B	A, F
Л-29477	B, D	B	E, I	A, B	A, F
Л-29825	B, D	B	E, I	B	A, F
Л-29865	B, D	B	E, I	B	A
Л-30346	D	B, C	E, I	A, B	F
Л-30735	B, D	B, C	D, I	A, B	B, H
Зеленозерный 1	D	B	A, D	A, B	H
Флаванда	D	C	E, I	B	H
Флагман	D	B	E, I	A, B	F
К-8714	D	B	D, H	A, B	A
Неосыпающийся 1	D	C	D, I	B	F
Приекульский 380	D	C	D, I	A, B	E
Топаз	D	B	E, I	A, B	A
Труженик	D	B	E, I	B	F
Усатый 90	D	B	E, I	B	B
Усач	B	B	E, I	B	A
Харвус 1	D	C	D, H	B	H
Чарльстон	B	B	D, H	A, B	H
к-5073	A	D	M, P	B	L
к-6017	D	B	D, H	A, B	H
к-6299	D	B	F, J	B	H
к-6548	D	B	D, H	B	G
к-6753	D	A	D, H	A, B	A
к-7044	D	A	F, J	A, B	F
к-7779	D	C	D, H	A, B	A
к-7899	C	B	A, D	A, B	G
к-7992	B	B	D, H	B	H
к-8289	D	A	D, H	A, B	H
к-8500	D	B	F, J	B	F
к-8750	D	B	A, E	A, B	A
к-8814	D	B	D, H	B	H

Примечание: Буквенные обозначения аллелей присвоены случайным образом в алфавитном порядке. Часть аллелей, отсутствующих в данной выборке (например, аллель «B» маркера AA355), были ранее нами обнаружены у других сортов, не вошедших в представленное исследование

Note: Letter symbols for the alleles were assigned at random in alphabetical order. Some of the alleles that are missing in this sample (for example, the 'B' allele of marker AA355) were previously detected in other cultivars which were not included in the presented study

Установлено, что для идентификации изученных сортов и линий достаточно использовать набор из пяти высокополиморфных микросателлитных локусов. Построенная в результате кластерного анализа дендрограмма объединила в себе разнообразный исходный материал для селекции гороха, представленный как образцами инорайонной отечественной и зарубежной селекции из коллекции мировых генетических ресурсов ВИР, так и местными линиями и сортами. При этом исследованные сорта и линии сгруппировались в значительной степени в соответствии с их происхождением (родословной), географией распространения (регионом, к агроклиматическим условиям которого сорт адаптирован), особенностями морфобиологических и селекционно важных признаков. Анализируемая дендрограмма позволяет визуализировать степень генетического сходства или различия изученных образцов, а также предоставляет дополнительную информацию для эффективного подбора пар при гибридизации, основанной на генетической отдаленности.

Работа выполнена в рамках государственного задания № АААА-А19-119021190011-0 по теме «Поиск и идентификация молекулярных маркеров стрессоустойчивости растений и разработка подходов генетической паспортизации сельскохозяйственных культур».

The work has been done within the framework of State Task No. AAAA-A19-119021190011-0 entitled: "Search for and identification of molecular markers for plant stress resistance and development of approaches to crop genetic passportization".

References/Литература

Abdel-Mawgood A.L., Ahmed M.M.M., Ali B.A. Application of molecular markers for hybrid maize (*Zea mays* L.) identification. *Journal of Food, Agriculture and Environment.* 2006;4(2):176-178.

Awadalla P., Ritland K. Microsatellite variation and evolution in the *Mimulus guttatus* species complex with contrasting mating systems. *Molecular Biology and Evolution.* 1997;14(10):1023-1034. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a025708

Boronnikova S.V. Molecular marking and genetic certification resource and rare species of plants for the purpose of optimization of preservation of their genofunds. *Agrarian Bulletin of the Urals.* 2009;2(56):57-59. [in Russian] (Боронникова С.В. Молекулярное маркирование и генетическая паспортизация ресурсных и редких видов растений с целью оптимизации сохранения их генофондов. *Аграрный вестник Урала.* 2009;2(56):57-59).

Botstein D., White R.L., Skolnick M., Davis R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics.* 1980;32(3):314-331.

Davletov F.A. Breeding of non-shattering pea cultivars under the conditions of the Southern Urals (Selektsiya neosypayushchikhsya sortov gorokha v usloviyakh Yuzhnogo Urala). Ufa: Gilem; 2008. [in Russian] (Давлетов Ф.А. Селекция неосыпающихся сортов гороха в условиях Южного Урала. Уфа: Гилем; 2008).

Davletov F.A., Gainullina K.P. The influence of meteorological conditions on the hybridization results. *Agrarian Bulletin of the Urals.* 2011;4(83):5-6. [in Russian] (Давлетов Ф.А., Гайнуллина К.П. Влияние метеорологических условий на результаты гибридизации. *Аграрный вестник Урала.* 2011;4(83):5-6).

Davletov F.A., Gainullina K.P., Ashiev A.R. Peculiarities of growth and development of pea's varieties and lines of different morphotypes in the conditions of South Urals. *Grain Economy of Russia.* 2011;5:22-31. [in Russian] (Давлетов Ф.А., Гайнуллина К.П., Ашиев А.Р. Особенности роста и развития сортов и линий гороха различных морфотипов в условиях Южного Урала. *Зерновое хозяйство России.* 2011;5:22-31).

Davletov F.A., Gainullina K.P., Ashiev A.R. Variability of the duration of vegetative period of field pea (*Pisum sativum* L.) in the Cis-Ural steppe of the Republic of Bashkortostan. *Herald of the Academy of Sciences of the Republic of Bashkortostan.* 2014;19(3):49-59. [in Russian] (Давлетов Ф.А., Гайнуллина К.П., Ашиев А.Р. Изменчивость продолжительности вегетационного периода гороха посевного (*Pisum sativum* L.) в условиях Предуральской степи Республики Башкортостан. *Вестник Академии наук Республики Башкортостан.* 2014;19(3):49-59).

De Haan H. The breeding of peas in the Netherlands. *Euphytica.* 1954;3:188-194. DOI: 10.1007/BF00055592

Dribnokhodova O.P., Gostimsky S.A. Allele polymorphism of microsatellite loci in pea (*Pisum sativum* L.) lines, varieties, and mutants. *Russian Journal of Genetics.* 2009;45(7):900-906. [in Russian] (Дрибноходова О.П., Гостимский С.А. Исследование аллельного полиморфизма микросателлитных локусов у разных линий, сортов и мутантов гороха посевного (*Pisum sativum* L.). *Генетика.* 2009;45(7):900-906).

Dyachenko E.A., Ryzhova N.N., Kochieva E.Z., Vishnyakova M.A. Molecular genetic diversity of the pea (*Pisum sativum* L.) from the Vavilov Research Institute collection detected by the AFLP analysis. *Russian Journal of Genetics.* 2014;50(9):1040-1049. [in Russian] (Дьяченко Е.А., Рыжова Н.Н., Вишнякова М.А., Кочиева Е.З. Молекулярно-генетическое разнообразие гороха (*Pisum sativum* L.) из коллекции ВИР на основе данных AFLP-анализа. *Генетика.* 2014;50(9):1040-1049). DOI: 10.7868/S0016675814090045

Gainullina K.P., Davletov F.A. Creation and introduction in agricultural industry of high-producing technological pea cultivar Pamyati Hangil'dina. In: *Current state, traditions and innovative technologies in the development of the agro-industrial complex. Part 1 (Sovremennoye sostoyaniye, traditsii i innovatsionnyye tekhnologii v razvitii APK. Chast 1). Proceedings of the International Scientific and Practical Conference in the Framework of the XXVIII International Specialized Exhibition "Agrocomplex-2018"; March 14–26, 2018; Ufa.* Ufa: Bashkir SAU; 2018. p.29-33. [in Russian] (Гайнуллина К.П., Давлетов Ф.А. Создание и внедрение в производство высокопродуктивного технологичного сорта гороха Памяти Хангильдина. В кн.: *Современное состояние, традиции и инновационные технологии в развитии АПК. Часть 1. Материалы международной научно-практической конференции в рамках XXVIII Международной специализированной выставки «Агрокомплекс-2018»; 14–16 марта 2018 г.; Уфа.* Уфа: Башкирский ГАУ; 2018. Ч.1. С.29-33). URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_34987801_24170663.pdf [дата обращения: 10.04.2020]

Govorov L.I. Pea (Gorokh). In: *Cultivated Flora of the USSR (Kulturnaya flora SSSR).* Moscow; Leningrad:

Selkhozgiz; 1937. [in Russian] (Говоров Л.И. Горох. В кн.: *Культурная флора СССР*. Москва; Ленинград: Сельхозгиз; 1937).

Guchetl S.Z., Chelyustnikova T.A., Antonova T.S., Ramasanova S.A. Microsatellite loci as markers for identification and certification of sunflower lines and hybrids of VNIIMK breeding. *Oil Crops. Scientific and Technical Bulletin of VNIIMK.* 2007;137(2):27-32. [in Russian] (Гучетль С.З., Челюстникова Т.А., Антонова Т.С., Рамазанова С.А. Микросателлитные локусы как маркеры для идентификации и сертификации линий и гибридов подсолнечника селекции ВНИИМК. *Масличные культуры. Научно-технический бюллетень ВНИИМК*. 2007;2(137):27-32).

Guyomarc'h H., Sourdille P., Charmet G., Edwards K., Bernard M. Characterisation of polymorphic microsatellite markers from *Aegilops tauschii* and transferability to the D-genome of bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics.* 2002;104:1164-1172. DOI: 10.1007/s00122-001-0827-7

Jain S., Kumar A., Mamidi S., McPhee K. Genetic diversity and population structure among pea (*Pisum sativum* L.) cultivars as revealed by simple sequence repeat and novel genic markers. *Molecular Biotechnology.* 2014;56(10):925-938. DOI: 10.1007/s12033-014-9772-y

Khlestkina E.K. Molecular markers in genetic studies and breeding. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2013;17(4/2):1044-1054. [in Russian] (Хлесткина Е.К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2013;17(4/2):1044-1054).

Lihacheva L.I., Gimaletdinova V.S. Selection evaluation of promising varieties of peas in the conditions of Middle Ural. *Legumes and Groat Crops*. 2014;11(3):20-24. [in Russian] (Лихачева Л.И., Гималетдинова В.С. Селекционная оценка перспективных сортов гороха в условиях Среднего Урала. *Зернобобовые и крупяные культуры*. 2014;3(11):20-24).

Loridon K., McPhee K., Morin J., Dubreuil P., Pilet-Nayel M.L., Aubert G. et al. Microsatellite marker polymorphism and mapping in pea (*Pisum sativum* L.). *Theoretical and Applied Genetics.* 2005;111:1022-1031. DOI: 10.1007/s00122-005-0014-3

Ma Y., Coyne C.J., Grusak M.A., Mazourek M., Cheng P., Main D. et al. Genome-wide SNP identification, linkage map construction and QTL mapping for seed mineral concentrations and contents in pea (*Pisum sativum* L.). *BMC Plant Biology.* 2017;17:43. DOI: 10.1186/s12870-016-0956-4

Makasheva R.Kh. Pea (Gorokh). In: *Cultivated Flora of the USSR (Kulturnaya flora SSSR)*. Leningrad: Kolos; 1979. [in Russian] (Макашева Р.Х. Горох. В кн.: *Культурная флора СССР.* Ленинград: Колос; 1979).

Popolzukhin P.V., Gaidar A.A., Vasilevskii V.D. The role of the sowing schedule in the growing of cultivated pea seeds of various morphotypes in the southern forest-steppe of Western Siberia (Rol sroka poseva v vyrashchivanii semyan sortov gorokha posevnogo razlichnogo morfotipa v yuzhnoi lesostepi Zapadnoy Sibiri). In: *Leguminous crops – a developing trend in Russia (Zernobobovye kultury – razvivayushcheyesya napravleniye v Rossii).* Omsk: Omsk SAU; 2016. p.100-104. [in Russian] (Поползухин П.В., Гайдар А.А., Василевский В.Д. Роль срока посева в выращивании семян сортов гороха посевного различного морфотипа в южной лесостепи Западной Сибири. В кн.: *Зернобобовые культуры – развивающееся направление в России.* Омск: Омский ГАУ; 2016. С.100-104). URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_26340635_29221627.pdf [дата обращения: 10.04. 2020].

Qu J., Liu J. A genome-wide analysis of simple sequence repeats in maize and the development of polymorphism markers from next-generation sequence data. *BMC Research Notes.* 2013;6:403. DOI: 10.1186/1756-0500-6-403

Shelepina N.V., Shchurov A.Y. National economic significance and features of the chemical composition of pea grain (Narodnokhozyaystvennoye znacheniye i osobennosti khimicheskogo sostava zerna gorokha). *Nauchnye zapiski OrelGIET = Scientific Notes of Orel State University of Economic and Trade.* 2010;1:537-539. [in Russian] (Шелепина Н.В., Щуров А.Ю. Народнохозяйственное значение и особенности химического состава зерна гороха. *Научные записки ОрелГИЭТ*. 2010;1:537-539).

Singh A.K., Rai R., Singh B.D., Chand R., Srivastava C.P. Validation of SSR markers associated with rust (*Uromyces fabae*) resistance in pea (*Pisum sativum* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants.* 2015;21(2):243–247. DOI: 10.1007/s12298-015-0280-8

Sulimova G.E. DNA-markers in genetic studies: types of markers, their characteristics and application. *Advances in Current Biology.* 2004;124(3):260-271. [in Russian] (Сулимова Г.Е. ДНК-маркеры в генетических исследованиях: типы маркеров, их свойства и области применения. *Успехи современной биологии.* 2004;124(3):260-271).

Tautz D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research.* 1989;17(16):6463-6471. DOI: 10.1093%2Fnar%2F17.16.6463

Yang T., Fang L., Zhang X., Hu J., Bao S., Hao J. et al. High-throughput development of SSR markers from pea (*Pisum sativum* L.) based on next generation sequencing of a purified Chinese commercial variety. *PLoS One.* 2015;10(10):e0139775. DOI: 10.1371/journal.pone.0139775

Zhang Z., Deng Y., Tan J., Hu S., Yu J., Xue Q. A genome-wide microsatellite polymorphism database for the indica and japonica rice. *DNA Research.* 2007;14(1):37-45. DOI: 10.1093/dnares/dsm005

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

Гайнуллина К.П., Кулуев Б.Р., Давлетов Ф.А. Оценка генетического разнообразия сортов и линий гороха с помощью SSR-анализа. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(3):70-80. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-70-80

Gainullina K.P., Kuluev B.R., Daletov F.A. Genetic diversity assessment in pea cultivars and lines using the SSR analysis. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(3):70-80. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-70-80

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/10.30901/2227-8834-2020-3-70-80

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
Gainullina K.P. https://orcid.org/0000-0001-6246-1214
Kuluev B.R. https://orcid.org/0000-0002-1564-164X
Davletov F.A. https://orcid.org/0000-0002-7421-869X

A study of the genetic diversity in the world soybean collection using microsatellite markers associated with fungal disease resistance

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-81-90
УДК 581.1:577.21: 631.527: 635.655
Поступление/Received: 25.07.2020
Принято/Accepted: 21.09.2020

Изучение генетического разнообразия мировой коллекции сои с использованием микросателлитных маркеров, связанных с устойчивостью к грибным болезням

A. K. ZATYBEKOV [1], Y. T. TURUSPEKOV [1, 2], B. N. DOSZHANOVA [1], S. I. ABUGALIEVA [1, 2*]

[1] *Institute of Plant Biology and Biotechnology, 45 Timiryazev St., Almaty 050040, Kazakhstan*
*alibek.zatybekov@gmail.com; yerlant@yahoo.com; sybanbaeva_bota@mail.ru; * absaule@yahoo.com*

[2] *Al-Farabi Kazakh National University, 71 Al-Farabi Ave., Almaty 050040, Kazakhstan*

А. К. ЗАТЫБЕКОВ [1], Е. К. ТУРУСПЕКОВ [1, 2], Б. Н. ДОСЖАНОВА [1], С. И. АБУГАЛИЕВА [1, 2*]

[1] *Институт биологии и биотехнологии растений, 050040 Казахстан, г. Алматы, ул. Тимирязева, 45*
*alibek.zatybekov@gmail.com; yerlant@yahoo.com; sybanbaeva_bota@mail.ru; * absaule@yahoo.com*

[2] *Казахский национальный университет имени аль-Фараби, 050040 Казахстан, г. Алматы, пр. аль-Фараби, 71*

Background. Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) gradually becomes one of the leading legume crops in Kazakhstan. The area under soybeans in the country has been increasing annually and requires the development of adapted cultivars with a higher yield, improved quality characters, and resistance to emerging fungal diseases. The enlargement of the crop's gene pool also suggests the need to study and document local soybean accessions to meet the standards of the available world soybean collection by using reliable and informative types of DNA markers. **Materials and methods.** In this study, the soybean collection consisting of 288 accessions from different countries, including 36 cultivars and promising lines from Kazakhstan, was studied. The molecular genetic analysis was performed using nine polymorphic SSR (simple sequence repeats) markers, seven of which (Satt244, Satt565, Satt038, Satt309, Satt371, Satt570 and Sat_308) were associated with resistance to three main fungal diseases of soybean – frogeye leaf spot, fusarium root rot, and purple seed stain. **Results.** The average PIC (polymorphism information content) value of the analyzed SSR markers constituted 0.66 ± 0.07, confirming their high-level polymorphism. The principal coordinate analysis suggested that the local accessions were genetically most close to the accessions from East Asia. As the collection showed a robust resistance to three studied fungal diseases in Almaty Region during 2018–2019, the distribution of the studied SSR markers in the population was not significantly associated with resistance to the analyzed diseases under field conditions. **Conclusion.** SSR genotyping of the soybean collection helped to identify accessions that potentially possess resistance-associated alleles of fungal disease resistance genes. The data obtained can be further used for the development of DNA documentation and the breeding the promising cultivars and lines of soybean.

Key words: *Glycine max*, SSR markers, frogeye leaf spot, fusarium root rot, purple seed stain.

Актуальность. Соя (*Glycine max* (L.) Merr.) становится одной из ведущих зернобобовых культур в Казахстане, что в свою очередь требует создания адаптированных сортов, характеризующихся более высокой урожайностью, улучшенными признаками качества и устойчивостью к новым грибным болезням. В связи с расширением генофонда культуры местные образцы, вовлекаемые в селекционные программы, необходимо изучать и документировать с использованием надежных и информативных типов ДНК-маркеров. **Материалы и методы.** В настоящем исследовании изучена коллекция сои, включающая 288 образцов, в том числе 36 сортов и перспективных линий из Казахстана. Молекулярно-генетический анализ выполнен с использованием девяти полиморфных SSR-маркеров, семь из которых (Satt244, Satt565, Satt038, Satt309, Satt371, Satt570 и Sat_308) сцеплены с генами устойчивости к трем основным грибным болезням сои: церкоспорозу, корневой гнили и пурпурному церкоспорозу. **Результаты.** Среднее значение индекса PIC (polymorphism information content) анализируемых SSR-маркеров составило 0,66 ± 0,07, что подтверждает высокий уровень их полиморфизма. Анализ методом главных координат показал, что местные образцы генетически наиболее близки к сортам из Восточной Азии. В 2018 и 2019 годах в условиях Алматинской области наблюдали высокую устойчивость образцов коллекции к трем изученным грибным болезням. Распределение полиморфных вариантов изученных SSR-маркеров в популяции не было статистически значимо связано с наличием устойчивости в полевых условиях. **Заключение.** SSR-генотипирование коллекции сои позволило выявить образцы, обладающие аллелями SSR-локусов, ассоциированных с генами устойчивости к грибным болезням. Результаты исследований могут быть в дальнейшем использованы для ДНК-паспортизации и селекции перспективных сортов и линий сои.

Ключевые слова: *Glycine max*, SSR-маркеры, церкоспороз, корневая гниль, пурпурный церкоспороз.

Introduction

Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) is one of the most economically important legume crops, which provides plant protein for more than a quarter of all food and feed in the world (Garcia et al., 1997). Over the past ten years, the worldwide soybean production increased 1.2 times due to the ever-rising demand for this crop. In 2019, it was at the level of 358,650 million metric tons, and the major part of this yield belonged to Brazil, USA, and Argentina (U.S. Department of Agriculture…, 2020). Soybean is considered a highly profitable, export-oriented crop in Kazakhstan. Nowadays, over 90% of soybean production has been concentrated in Almaty Region (Makulbekova et al., 2017). In 2019, Kazakhstan harvested 229,000 metric tons of soybean. For further development of the soybean industry, the Government of Kazakhstan has declared a new program "Northern Soybean" for diversification of soybean to the north part of the country. Implementation of this program would make it possible over five years to enlarge sown areas to 1.5 million ha, raise productivity, and increase the production over 3 million tons (North Kazakhstan…, 2019).

The important factor that severely limits the soybean productivity worldwide is susceptibility to harmful diseases (Wrather et al., 1996). In Kazakhstan, more than ten fungal diseases of soybean have been identified (Maui et al., 2016; Zatybekov et al., 2018). Due to the expanding area under this crop, it is an obvious necessity to study the genetic potential of soybean associated with the tolerance to harmful pathogens. In general, the total yield loss due to susceptibility to fungal diseases can reach 40% (Wrather et al., 1996). Frogeye leaf spot (FLS, caused by *Cercospora sojina* Hara), fusarium root rot (FRR, caused by *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. f. sp. *glycines* Roy), and purple seed stain (PSS, caused by *Cercospora kikuchii* (Tak. Matsumoto & Tomoy.) M.W. Gardner) are the most dangerous and widespread fungal diseases of soybean worldwide (Zatybekov et al., 2017).

In local breeding programs targeted for soybean resistance to fungal diseases, phenotypic analysis is mainly carried out on the basis of field observations; there are practically no studies at the molecular level. Therefore, along with field assessment of the various gene pools for resistance to fungal diseases, the analysis of genetic diversity is also required.

The genetic marker is a DNA sequence with a known chromosome localization which is linked with a particular gene or is a part of a gene of interest (Idrees et al., 2014). They are useful tools to differentiate individuals in a population or to classify individuals representing different varieties or cultivars within a species. To date, there are a number of various classes of DNA markers applied for different purposes in plant molecular genetics, breeding, biotechnology, etc. (Idrees et al., 2014; Singh et al., 2010). Simple sequence repeats (SSRs), or microsatellites, have become the most widely used markers for DNA fingerprinting or genotyping plant accessions. SSRs were applied in many studies due to their high informativeness, codominance, multiallelism, reproducibility in different laboratories, and transferability among related species (Cregan et al., 1999). In particular, SSRs are considered as a reliable tool to identify the genetic diversity and relationships among soybean genotypes in different populations (Wang et al., 2006).

Assessment of genetic divergence and relatedness among genetic resources (as potential breeding material) has significant implications for the improvement of crop plants. Knowledge of genetic diversity could help soybean geneticists and breeders to understand the structure of germplasm, predict which combinations would produce the best offspring, and facilitate widening of the genetic base of breeding material for selection (Bisen et al., 2015). The survey of recent reports demonstrated the successful use of SSR markers for screening soybean in relation with resistance to fungal diseases (Zhong et al., 2018; Ghorbanipour et al., 2019).

Rouf Mian et al. (1999) used the NILs (near-isogenic lines) population created by backcrossing the *Rcs3* gene from cv. Davis to the FLS-susceptible cultivar Wright. In the cultivar Davis (showing complete resistance to all isolates of FLS causative agent), the donor parent of the *Rcs3* allele for FLS resistance, a 154 bp fragment of Satt244 was amplified (Rouf Mian et al., 1999). Iqbal with co-authors identified six QTLs responsible for SDS resistance and reported five of them to be related to the SSR markers Satt214, Satt309, Satt570 (on the linkage group G), Satt371 (LG C2), and Satt354 (LG I) (Iqbal et al., 2001). Closely located to the *Rfs* gene is the SSR marker Satt309, which produced a 165 bp band in cv. Forrest resistant to SDS. Jointly, these QTLs explained about 90% of the total variation in SDS disease incidence of RILs (recombinant inbred lines) from the Forrest × Essex cross, and they showed only the presence of additive genic action (Iqbal et al., 2001). Jackson et al. (2008) carried out genetic mapping of resistance to PSS in the F_2 population from crossing the susceptible cultivar Agripro 350 and resistant PI 80837. The candidate gene has been mapped between Sat_308 and Satt594 loci on molecular linkage group G. The Sat_308 primers produced a band of approximately 310 bp both in PI 80837 and the resistant bulk (Jackson et al., 2008). Hence, the involvement of polymorphic informative SSR markers into breeding is important for crop improvement programs, including targeting resistance to diseases. The purpose of this work was to study the genetic diversity in the soybean collection, consisting of 288 accessions, using microsatellite markers associated with resistance to common fungal diseases – FLS, FRR, and PSS.

Materials and methods

Plant material and field observations

The objects of this study were 288 soybean accessions from different countries, including 36 released cultivars and prospective lines from Kazakhstan (Zatybekov et al., 2018). The world collection was represented by the soybean accessions originated from 5 geographic regions, including Eastern Europe (n = 122), Western Europe (n = 23), East Asia (n = 57), North America (n = 50), and Kazakhstan (n = 36). Cv. 'Zhansaya' was used as a check cultivar Almaty Region. Field trials were conducted on the experimental plots of the Kazakh Research Institute of Agronomy and Plant Industry (KRIAPI) in 2018 and 2019 (Zatybekov et al., 2018). The soybean collection was grown in three randomized replicates on one-meter plots. The resistance to FLS, FRR, and PSS was studied under natural infection. A nine-point scale was used, where point 1 denoted high resistance (no symptoms); 3 – resistance (5 – 19% affected); 5 – partial resistance (20–49% affected); 7 – susceptibility (50–79% affected); and 9 – high susceptibility (up to 80% affected) (Hnetkovsky et al., 1996). The data were used to study the relationships between the disease resistance of the collection accessions and the following 8 major agronomic traits: plant height (PH), the height of lowest pod (HLP), number of lateral branches (NLB), number of fertile nodes (NFN), number of seeds per plant (NSP), thousand seeds weight (TSW), yield per plant (YP), and yield per plot (YpP). The field trials were conducted in 2018, and 2019; the analyzed traits were evaluated according to Korsakov et al. (1968).

DNA extraction and SSR genotyping

Total DNA was isolated from seedlings of all soybean accessions, according to Dellaporta et al. (1983). The soybean collection was genotyped using nine SSR markers, with appropriate optimization of polymerase chain reaction (PCR) conditions for specific primer pairs (Cregan et al., 1999). PCR was conducted in a 20 μl total volume containing 20 ng of genomic DNA, 1U Taq DNA polymerase, 0.2 mM of each dNTP, 10 pmol of each primer, 1.5 mM MgCl2 in the 1× Taq Buffer. The list of SSR markers used for the analysis is presented in Table 1.

Table 1. The list of simple sequence repeat (SSR) markers used for screening the soybean collection

Таблица 1. Список SSR-маркеров, использованных для скрининга коллекции сои

SSR marker	Disease	Chromo-some	Linkage group	Forward sequence 5' – 3'	Reverse sequence 5' – 3'	Motif
Satt565	FLS	4	C1	GCGCCCGGAACTTGTAATA-ACCTAAT	GCGCTCTCTTATGAT-GTTCATAATAA	(AAT) 19
Satt371	FRR	6	C2	TGCAAACTAACTG-GATTCACTCA	GAGATCCCGAAATTTTAGTG-TAACA	(TAA) 11
Satt244	FLS	16	J	GCGCCCCATATGTTTAAAT-TATATGGAG	GCGATGGGGATATTTTCTT-TATTATCAG	(AAT) 27
Satt529	FLS	16	J	GCGCATTAAGGCATA-AAAAAGGATA	GCACAATGACAATCACATA-CA	(ATT) 13
Sat_308	PSS	18	G	GCGTTGGCAATTCAG-GATATATTTAAGATTT	GCGGCTGCGTTTT-TATTCAAACTTGTT	(AT) 19
Satt038	FRR	18	G	GGGAATCTTTTTTTCTTTC-TATTAAGTT	GGGCATTGAAATGGTTT-TAGTCA	(ATA) 17
Satt115	PSS	18	G	GGTTCGTTTTTTATTGATG	ACGACGAAATTGATGATAA	(TAT) 18
Satt309	FRR	18	G	GCGCCTTCAAATTGGC-GTCTT	GCGCCTTAAATAAAACCC-GAAACT	(ATA) 13
Satt570	FRR	18	G	CTCATGTG-GTCCTACCCAGACTCA	CGCTATCCCTTTG-TATTTTCTTTTGC	(TAT) 11

The markers Satt244, Satt529 and Satt565 are known to be associated with FLS resistance (Rouf Mian et al., 1999); Satt038, Satt309, Satt371 and Satt570 with FRR resistance (Iqbal et al., 2001); Sat_308 and Satt115 with resistance to PSS (Jackson et al., 2008). PCR, including preliminary denaturation of total DNA at 94°C for 1 min, subsequent 30–40 cycles (94°C – 1 min, 50–65°C – 30–60 s, 72°C – 1 min) and elongation at 72°C – 7 min, was carried out using a Veriti™ Thermal Cycler (Thermo Fisher Scientific, USA). PCR products were separated on 6% polyacrylamide gels (Amresco, Solon, OH) run in 0.5× TBE buffer, pH 8.0 at 250 V for 1.5 h. Gels were stained with ethidium bromide, and the images were recorded with a Bio-Rad Image System (Bio-Rad, Hercules, CA). Allele sizes were estimated in comparison with the DNA molecular weight marker (100 bp ladder, Fermentas).

Statistical analysis

Statistical analyses of field data were done using SPSS 22.0 and STATISTICA 13.5 software.

The effective number of alleles per locus was determined using the GenAlex, ver.6.5 software (Peakall et al., 2012). The values of the PIC index (polymorphism information content) suggested the effectiveness of the markers used, given that markers with a value of PIC > 0.5 were considered as highly informative; 0.5 > PIC > 0.25 as informative; and PIC ≤ 0.25 as marginally informative (Botstein et al., 1980). Genetic diversity was assessed on the basis of Nei's genetic diversity index and Shannon Information Index, using the GenAlex, ver.6.5 program (Peakall et al., 2012). The resulting similarity matrix was further analyzed using the unweighted pair-group method with arithmetic mean (UPGMA) clustering algorithm for the construction of the dendrogram. Variation among populations was studied using Principal Coordinate Analysis (PCoA) with the software GenAlex, ver.6.5 (Peakall et al., 2012).

Analysis of the population structure was carried out using STRUCTURE (v2.3.4.) software with a Bayesian Markov Chain Monte Carlo (MCMC) approach, based on the admixture and correlated frequency models (Evanno et al., 2005). The output from STRUCTURE was analyzed for the delta K value (ΔK) in STRUCTURE HARVESTER (Earl et al., 2012). The genetic map was drawn using MapChart v.2.3 software (Voorrips, 2002).

Results

Phenotypic variation of the soybean resistance to fungal diseases

Results of the two-year field trials of 288 soybean accessions revealed variations in their resistance to FLS, FRR, and PSS caused by three fungal pathogens – *Cercospora sojina*, *Fusarium solani*, and *Cercospora kikuchii* respectively (Table 2).

In 2018, symptoms of infection by the FRR causative agent were not observed. More than 90% of the analyzed soybean collection showed high resistance to the studied fungal diseases (Table 2). The Pearson correlation analysis based on the average values of 2018 and 2019 field trials helped to reveal

Table 2. Evaluation of 288 soybean accessions for resistance to frogeye leaf spot, fusarium root rot, and purple seed stain

Таблица 2. Оценка 288 образцов сои по устойчивости к церкоспорозу, корневой гнили и пурпурному церкоспорозу

Resistance type	Accessions resistant to fungal diseases, %					
	2018			2019		
	FLS	FRR	PSS	FLS	FRR	PSS
R	97.2	0	91.7	98.6	98.9	98.9
MR	1.4	0	6.9	1.4	1.1	0.7
S	1.4	0	1.4	0	0	0.4

Note: FLS – frogeye leaf spot, FRR – fusarium root rot, PSS – purple seed stain; R – resistance, MR – moderate resistance, S – susceptibility

Примечание: FLS – церкоспороз, FRR – корневая гниль, PSS – пурпурный церкоспороз; R – устойчивый, MR – среднеустойчивый, S – восприимчивый

a highly positive relationship between morphological traits and yield components ($P < 0.01$) (Fig. 1). The disease resistance traits had negative correlations with agronomic traits. Most of them were observed in the relations between FLS resistance and major agronomic traits. The resistance to FRR had negative correlations with TSW and PH, while resistance to PSS was negatively correlated with YpP (Fig. 1).

Microsatellite analysis of soybean accessions

Soybean collection was studied using 9 SSR markers associated with resistances to frogeye leaf spot, fusarium root rot, and purple seed stain. Figures 2–4 present the results of electrophoresis of PCR products with primers Satt244, Satt309 and Sat_308. The Satt244 marker is known to be associated with resistance to FLS (Rouf Mian et al., 1999). The Satt244-154 allele linked to the *Rcs3* gene on chromosome 4 (linkage group C1) was detected for 50 accessions (Fig. 2).

According to Ding et al. (2012), the Satt565 marker is closely linked to the gene *Rcs1* controlling the resistance to FLS. In our study, the resistance-associated allele Satt565-208 was identified in 32 soybean accessions. Analysis of the studied collection using SSR markers associated with the resistance to FRR made it possible to identify 48 accessions with the Satt309-165 allele (Fig. 3) described by Iqbal et al. (2001).

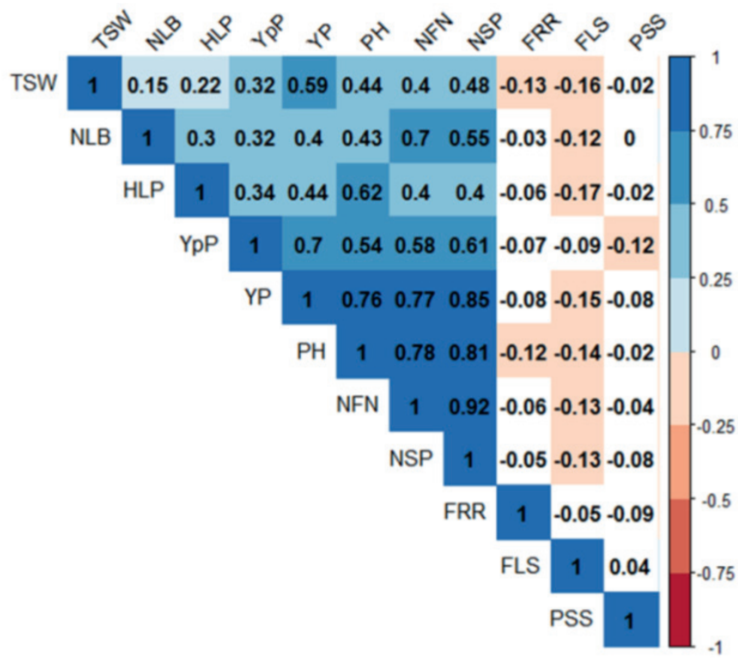


Fig. 1. The Pearson correlation analysis of the two-year average values (2018–2019) in disease resistance: frogeye leaf spot (FLS), fusarium root rot (FRR), and purple seed stain (PSS); morphological characters: plant height (PH), the height of lowest pod (HLP), number of lateral branches (NLB), and number of fertile nodes (NFN); yield components (number of seeds per plant (NSP), thousand seeds weight (TSW), yield per plant (YP), yield per plot (YpP)

Рис. 1. Корреляционный анализ Пирсона по средним значениям двухлетних данных (2018–2019): по устойчивости к болезням: церкоспороз (FLS), корневая гниль (FRR), пурпурный церкоспороз (PSS); морфологическим признакам: высота растения (PH), высота прикрепления нижнего боба (HLP), число боковых ветвей (NLB), число продуктивных узлов (NFN); компонентам урожайности: количество семян с растения (NSP), масса тысячи семян (TSW), урожайность с растения (YP), урожайность с делянки (YpP)

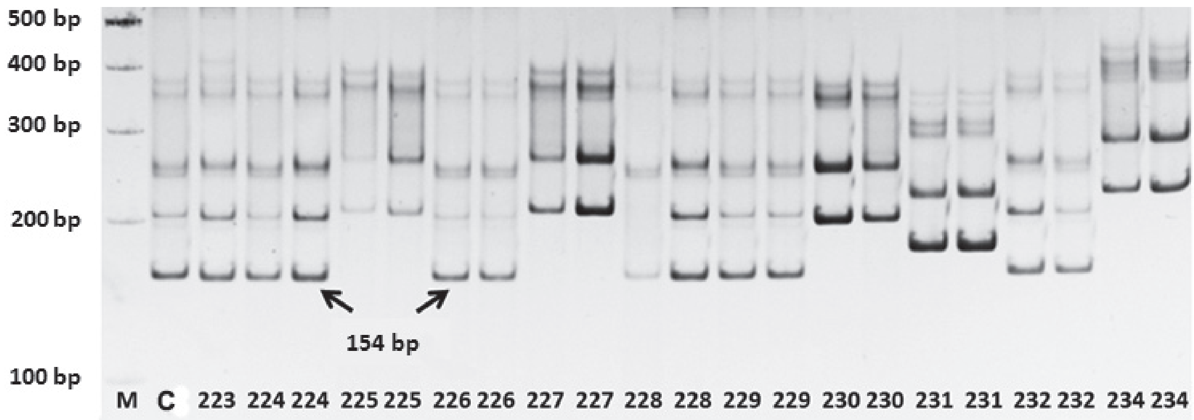


Fig. 2. Electrophoregrams of PCR products amplified with primers Satt244:
M – DNA molecular weight marker (100 bp ladder, Fermentas), C – check cultivar Zhansaya, 223–234 – soybean cultivars: 223 – Ken Fen 20; 224 – 551; 225 – Dong Dow 29; 226 – Jing Xin 2; 227 – Dong Dow 339; 228 – Hei Hye 47; 229 – Hay Fen 50; 230 – Dong Dou 027; 231 – May Fen 18; 232 – Xu Xiong 1; 234 – Klaxxon.
The arrow indicates marker fragment Satt244-154, associated with resistance to frogeye leaf spot

Рис. 2. Электрофореграммы продуктов ПЦР с праймерами Satt244:
M – маркер молекулярного веса ДНК (100 bp ladder, Fermentas), C – сорт-стандарт Жансая, 223–234 – сорта сои: 223 – Ken Fen 20; 224 – 551; 225 – Dong Dow 29; 226 – Jing Xin 2; 227 – Dong Dow 339; 228 – Hei Hye 47; 229 – Hay Fen 50; 230 – Dong Dou 027; 231 – May Fen 18; 232 – Xu Xiong 1; 234 – Klaxxon.
Стрелкой отмечен маркерный фрагмент Satt244-154, ассоциированный с устойчивостью к церкоспорозу

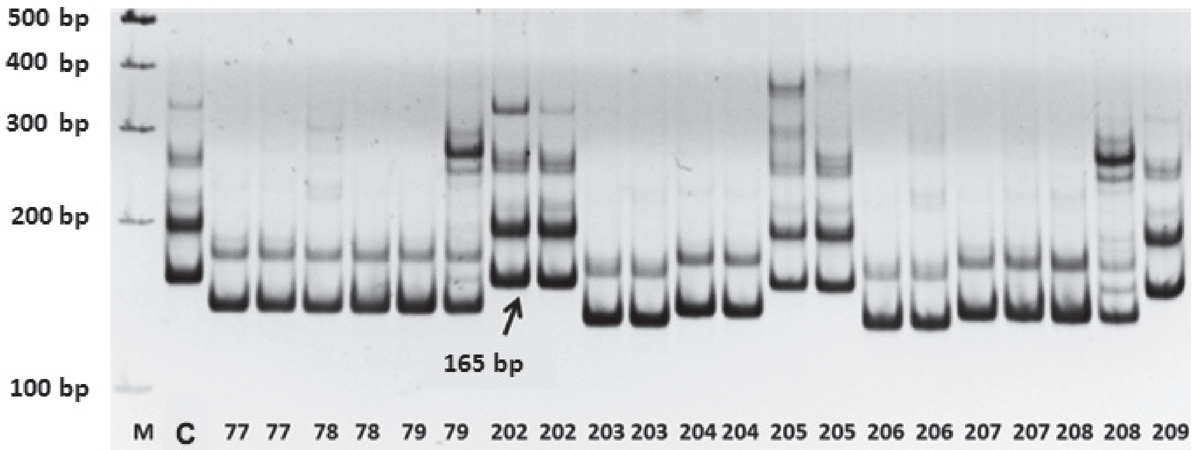


Fig. 3. Electrophoregrams of PCR products amplified with primers Satt309:
M – DNA molecular weight marker (100 bp **ladder**, Fermentas), C – check cultivar Zhansaya, 77–209 – soybean cultivars and lines: 77 – Prikarpatska 81; 78 – Chernovickaya 7; 79 – Spritna; 202 – 1082; 203 – 1028; 204 – 1055; 205 – 1095; 206 – 1026; 207 – 1071; 208 – 1003; 209 – 1022.
The arrow indicates marker fragment Satt309-165, associated with resistance to fusarium root rot

Рис. 3. Электрофореграммы продуктов ПЦР с праймерами Satt309:
M **–** маркер молекулярного веса ДНК (100 bp ladder, Fermentas), C – сорт-стандарт Жансая, 77–209 – сорта и линии сои: 77 – Прикарпатска 81; 78 – Черновицкая 7; 79 – Spritna; 202 – 1082; 203 – 1028; 204 – 1055; 205 – 1095; 206 – 1026; 207 – 1071; 208 – 1003; 209 – 1022.
Стрелкой отмечен маркерный фрагмент Satt309-165, ассоциированный с устойчивостью к корневой гнили

Also, soybean collection was analyzed on Satt570 (Iqbal et al., 2001), the marker closely linked to the *Rfs* gene that controls resistance to FRR. Seventy accessions with the Satt570-110 allele were identified. The analysis of the studied soybean collection using Sat_308 (Fig. 4) associated with resistance to PSS revealed 28 accessions carrying the Sat_308-310 allele, previously described by Jackson et al. (2008).

The frequencies for the alleles of SSR loci known to be related to disease resistance were detected for each group of soybean accessions (Table 3).

The results based on using 9 SSR polymorphic markers associated with resistance to FLS, FRR, and PSS revealed 40 alleles, with the average number of 4.42 alleles per marker (Table 4). The number of alleles per locus was from

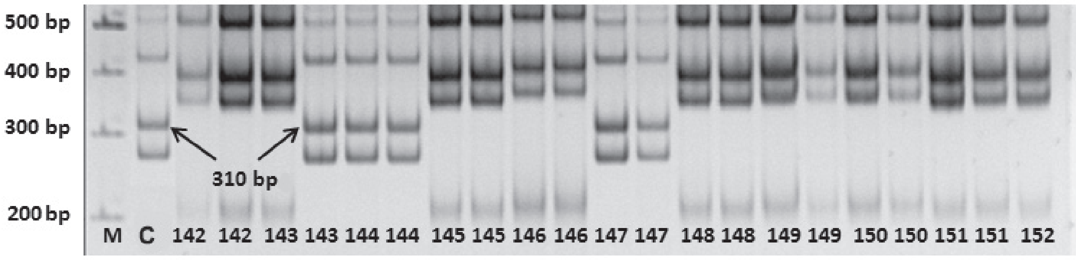


Fig. 4. Electrophoregrams of PCR products amplified with primers Sat_308:
M – DNA molecular weight marker (100 bp ladder, Fermentas), C – check cultivar Zhansaya, 142–152 – soybean cultivars: 142 – Sava; 143 – Venera; 144 – Zen; 145 – Protina; 146 – Sponsor; 147 – Isidor; 148 – Shama; 149 – Safrfna; 150 – Santana; 151 – Lada; 152 – Lira.
The arrow indicates marker fragment Sat_308-310 associated with resistance to purple seed stain

Рис. 4. Электрофореграммы продуктов ПЦР с праймерами Sat_308:
M – маркер молекулярного веса ДНК (100 bp ladder, Fermentas), C – сорт-стандарт Жансая, 142–152 – soybean cultivars: 142 – Sava; 143 – Venera; 144 – Zen; 145 – Protina; 146 – Sponsor; 147 – Isidor; 148 – Shama; 149 – Safrfna; 150 – Santana; 151 – Lada; 152 – Lira.
Стрелкой отмечен маркерный фрагмент Sat_308-310, ассоциированный с устойчивостью к пурпурному церкоспорозу

Table 3. The number of accessions carrying the alleles of SSR loci associated to three fungal diseases resistance, pcs

Таблица 3. Число образцов сои, несущих аллели SSR-локусов, ассоциированные с устойчивостью к трем грибным болезням, шт.

Origin group	Satt244-154	Satt565-208	Satt038-182	Satt570-110	Satt309-165	Satt371-272	Sat_308-310
Eastern Europe	12	21	9	21	17	23	11
Western Europe	3	1	7	4	5	2	4
East Asia	9	3	7	11	7	5	7
North America	3	5	9	20	7	10	1
Kazakhstan	23	2	1	14	12	10	5
Total	50	32	33	70	48	50	28

Table 4. Assessment of the genetic diversity level of SSR loci associated with resistance to FLS, FRR and PSS in the global soybean collection

Таблица 4. Оценка уровня генетического разнообразия SSR-локусов, связанных с устойчивостью к FLS, FRR и PSS в мировой коллекции сои

Diseases	Marker	na	ne	Nei	PIC
FLS	Satt244	5.2	3.72	0.64	0.83
	Satt565	5.0	3.16	0.68	0.78
	Satt529	4.0	2.59	0.57	0.76
FRR	Satt038	5.0	3.09	0.66	0.79
	Satt570	5.0	2.68	0.61	0.74
	Satt309	3.4	2.05	0.46	0.55
	Satt371	5.4	3.29	0.63	0.83
PSS	Sat_308	3.0	1.38	0.27	0.32
	Satt115	3.8	1.42	0.29	0.34
Mean		4.42	2.6	0.54	0.66
SE		0.44	0.34	0.06	0.07

Note: na – the number of alleles per locus; ne – the effective number of alleles; I – Shannon information index; Nei – Nei's diversity index; PIC – polymorphic information content

Примечание: na – количество аллелей на локус; ne – эффективное количество аллелей; I – индекс информативности Шеннона; Nei – индекс разнообразия Нея; PIC – индекс полиморфизма

3 (Sat_308) to 7 (Satt244). Each of the four microsatellite loci (Satt038, Satt371, Satt565, and Satt570) was represented by 6 alleles. The average number of alleles ranged from 3.0 for Sat_308 to 5.4 for Satt371 (Table 4). The effective number of alleles varied from 1.38 to 3.72, with a mean value of 2.6. Nei's genetic diversity index averaged 0.54 (Table 4). The average value of polymorphism information content (PIC) was 0.66, ranging from 0.32 for Sat_308 to 0.83 for Satt371.

The PCoA analysis based on the variability data for nine microsatellite markers in soybean populations demonstrated that genotypes from Western Europe are genetically more distant from the other four groups of origin. The PCoA2 coordinate effectively separated groups of North America and Eastern Europe from groups of East Asia and Kazakhstan. The local soybean accessions were close to the East Asian genotypes (Fig. 5).

ern Europe and East Asia. Most of the local genotypes were grouped in the Population 3 (Table 5).

Associations with alleles linked to disease resistance genes

Seven out of nine SSR loci were located close to the known resistance genes that controlled immune response to three studied fungal diseases (Fig. 7). The polymorphism observed at Satt244 and Satt565 associated with resistance to FLS showed that 78 accessions had at least one allele related to disease resistance. The analysis of polymorphism at four SSR loci (Satt038, Satt309, Satt371, and Satt570) related to FRR resistance helped to identify 154 accessions with at least one allele. There were no accessions carrying alleles of all four SSR marker loci related to disease resistance. The screening suggested that 38 out of 154 accessions had at least two alleles, and 4 accessions had three alleles associated with disease resistance, respectively. The Sat_308-310 allele associated with the resistance to PSS was found in 28 soybean accessions.

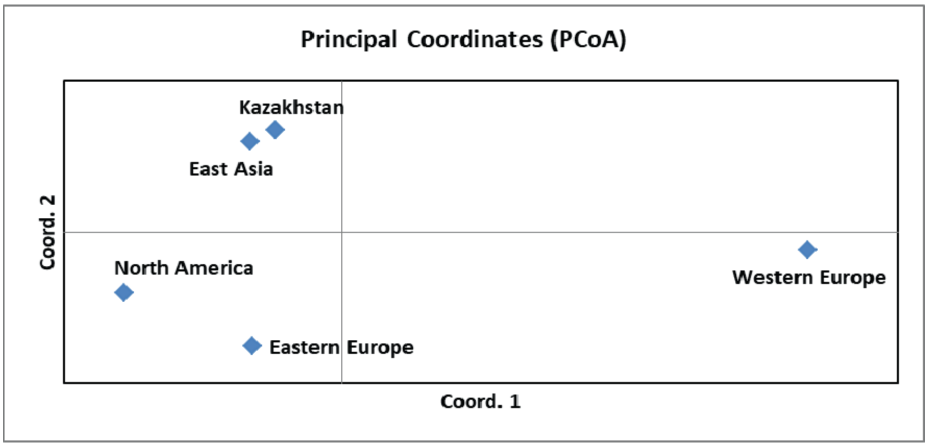


Fig. 5. Principal coordinate analysis of 288 soybean accessions divided into 5 groups based on 9 SSR markers associated with the resistance to fungal diseases

Рис. 5. Результаты анализа 288 образцов сои, разделенных методом главных координат на 5 групп, на основе данных скрининга с использованием 9 SSR-маркеров, связанных с устойчивостью к грибным болезням

The analysis based on using the STRUCTURE HARVESTER led to the development of Delta K (ΔK), which showed that the collection of 288 soybean accessions had an optimal number of populations equal to 3 (Fig. 6).

In total, the study made it possible to identify four genotypes which had at least one allele associated with resistance to one of the three studied fungal diseases. The application of the *t-test* did not reveal statistically significant differences between accessions with positive and negative alleles of SSR markers associated with resistance to three diseases under field conditions.

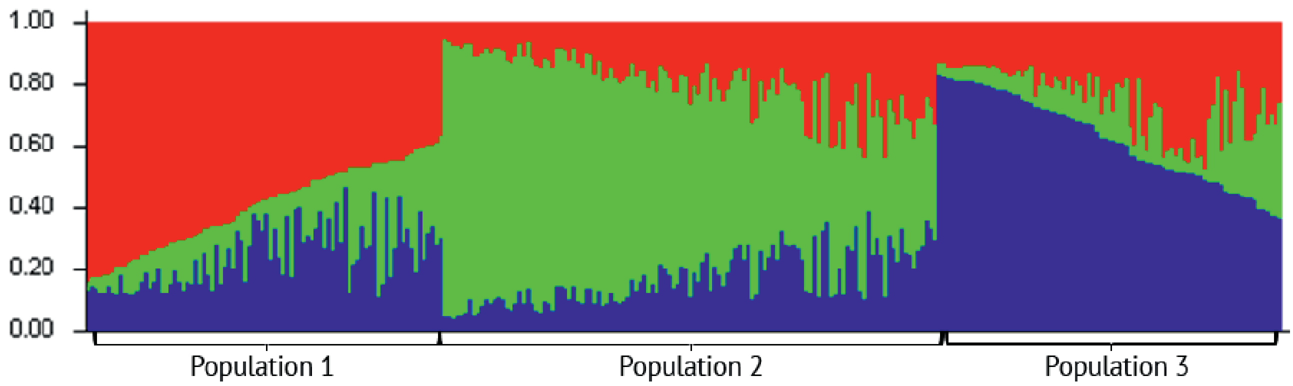


Fig. 6. Population analysis of 288 soybean accessions using STRUCTURE software

Рис. 6. Популяционный анализ 288 образцов сои с использованием программного обеспечения STRUCTURE

Three generated populations were represented by genotypes from all five groups with different origins. Population 2 had a largest number of accessions, which mainly included genotypes from Eastern Europe and North America. Population 1 included the majority of accessions from East-

Table 5. Distribution of accessions from 5 groups of origin among the obtained populations, pcs
Таблица 5. Распределение образцов по популяциям из 5 групп происхождения, шт.

Origin group	Population 1	Population 2	Population 3
Eastern Europe	43	51	28
Western Europe	7	10	6
East Asia	21	19	17
North America	5	37	8
Kazakhstan	11	2	23

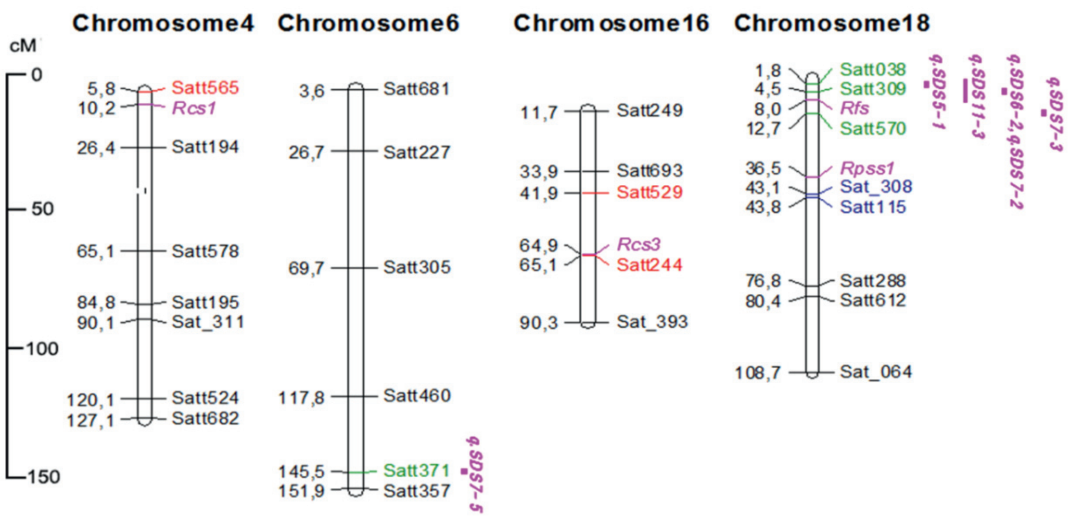


Fig. 7. Localization of 9 SSR markers associated with resistance to three studied fungal diseases
(the SSR markers associated with the resistance to frogeye leaf spot are shown in red, to fusarium root rot in green, and to purple seed stain in blue color, respectively. The positions of known soybean genes and quantitative traits loci (QTL) controlling disease resistance are shown in pink according to Soybase.org database)

Рис. 7. Локализация 9 SSR-маркеров, связанных с устойчивостью к трем изученным грибным болезням
(SSR-маркеры, связанные с устойчивостью к церкоспорозу, выделены красным, к корневой гнили – зеленым и к пурпурному церкоспорозу – синим цветом соответственно. Локализация известных генов устойчивости к болезням и локусов количественных признаков (QTL) показаны розовым цветом на основе базы данных Soybase.org)

Discussion

The results of field trials of the global soybean collection in the environments of Southeastern Kazakhstan showed high levels of resistance in a majority of the accessions to common fungal diseases in the tested environments. The two-year study of the resistance to FLS, FRR and PSS suggested that more than 97% of the collection were resistant to these diseases. The correlation analysis revealed significant positive correlations between agronomic characters and their negative correlations with resistance to fungal diseases. The soybean collection consisting of 288 accessions from different parts of the world was studied using nine microsatellite markers related to the genes of resistance to three fungal diseases, FLS, FRR and PSS. The SSR markers used in this study were highly polymorphic and informative, with the average PIC equal to 0.66. Two markers linked to PSS, Sat_308 and Satt115, showed moderate PIC values: 0.32 and 0.34, respectively (Table 4). At the same time, PIC for the entire soybean collection of 288 accessions, using the other seven SSR markers (Satt244, Satt565, Satt529, Satt038, Satt570, Satt309 and Satt371) related to FLS and FRR resistances, was higher (0.75), confirming high informativeness of these markers. The SSR loci with more than five alleles and PIC over 0.6 would be informative for genetic structure analysis and marker-assisted selection.

The PCoA analysis using nine SSR markers showed that local genotypes were genetically closer to East Asian cultivars, compared with accessions from other regions. The result confirms the field test data, suggesting that they have higher adaptability to the environments of Southeastern Kazakhstan.

Screening of the global soybean collection with nine polymorphic SSR markers made it possible to identify genotypes carrying 7 marker alleles associated with resistance to three fungal diseases. They were Satt244-154 and Satt565-208 associated with resistance to FLS; Satt 038-182, Satt309-165, Satt371-272 and Satt570-110 associated with resistance to FRR; and Sat_308-310 associated with the response PSS.

The accessions Slaviya, Amantai, 00533, and 10991 had the alleles Satt244-154 and Satt565-208 associated with FLS resistance. Satt244 was localized almost at the same position

(64.9 cM, linkage is less than 1 cM) on chromosome 16 (linkage group J) with the dominant resistance gene *Rcs3* (Fig. 7) governing the resistance to all known races of *C. sojina* (Rouf Mian et al., 1999). The soybean accessions carrying all four alleles related to FRR resistance were not revealed in this collection. At the same time, the screening identified four genotypes (L315/07, #98, Semu315, and Iskra) carrying three alleles associated with FRR resistance. Satt309 (4.53 cM) and Satt570 (12.74 cM) were localized close to the *Rfs* gene (Fig. 7) which controls the response of soybean to *F. solani* infection (Iqbal et al., 2001). Earlier it was reported that Sat_308 connected with PSS resistance was mapped in 6.6 cM from the *Rpss1* gene on chromosome 18 (Fig. 7) (Jackson et al., 2008). In our study, 28 soybean accessions from the studied collection carried the allele Sat_308-310. In previous studies, several disease resistance genes were identified on linkage group G (chromosome 18), which indicated the location of the cluster of resistance genes (Wang et al., 2001). The results can be used to effectively discriminate soybean accessions of Kazakhstan and strengthen breeding programs for the studied disease resistances.

Conclusion

Field trials of the soybean collection consisting of 288 accessions from different parts of the world suggested that over 97% of the collection was resistant to FLS, FRR and PSS fungal diseases in the studied period. Still, the correlation analysis showed that FLS and FRR had a negative effect on TSW, while FRR and PSS negatively correlated with yield. The evaluation of accessions using nine SSR markers associated with the resistance to FLS, FRR and PSS differentiated local samples from soybean accessions from other regions and indicated that they are genetically closer to cultivars from East Asia. The usage of the *t-test* did not show significant differences between the accessions with alleles linked to resistance and those with other alleles, which could be explained by low infection spreads of the three studied diseases in 2018 and 2019. The assessment of the SSR genotyping results revealed a high level of polymorphism and suggested that a majority of the applied markers can be successfully used in DNA documentation of soybean collections and breeding programs.

This research has been funded by Project AP05131592 supported by the Ministry of Education and Sciences of the Republic of Kazakhstan.

Работа финансировалась в рамках проекта AP05131592 при поддержке Министерства образования и науки Республики Казахстан.

References/Литература

Bisen A., Khare D., Nair P., Tripathi N. SSR analysis of 38 genotypes of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) genetic diversity in India. *Physiolology and Molecular Biology of Plants*. 2015;21(1):109-115. DOI: 10.1007/s12298-014-0269-8

Botstein D., White R.L., Skolnick M., Davis R.W. Construction of a genetic map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*. 1980;32(3):314-331.

Cregan P.B., Jarwik T., Bush A.L., Shoemaker R.C., Lark K.G., Kahler A.L. et al. An integrated genetic linkage map of the soybean genome. *Crop Science*. 1999;39:1464-1490.

Dellaporta S.L., Wood J., Hicks J.B. A plant DNA minipreparation: Version II. *Plant Molecular Biology Reporter*. 1983;1(4):19-21. DOI: 10.1007/BF02712670

Ding J.J., Jiang C.L., Gu X., Yang X.H., Zhao H.H., Shen H.B. et al. Establishment of molecular ID of soybean varieties (lines) using SSR markers linked to resistance genes against *Cercospora sojina*. *Acta Agronomica Sinica*. 2012;38(12):2206-2216. DOI: 10.3724/SP.J.1006.2012.02206

Earl D.A., von Holdt B.M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetic Resources*. 2012;4(2):359-361. DOI: 10.1007/s12686-011-9548-7

Evanno G., Regnaut S., Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*. 2005;14(8):2611-2620. DOI: 10.1111/j.1365-294X. 2005.02553.x

Garcia M.C., Torre M., Marina M.L., Laborda F., Rodriquez A.R. Composition and characterization of soyabean and related products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 1997;37(4):361-391. DOI: 10.1080/10408399709527779

Ghorbanipour A., Rabiei B., Rahmanpour S., Khodaparast S.A. Association analysis of charcoal rot disease resistance in soybean. *Plant Pathology Journal*. 2019;35(3):189-199. DOI: 10.5423/PPJ.OA.12.2018.0283

Hnetkovsky N., Chang S.J.C., Doubler T.W., Gibson P.T., Lightfoot D.A. Genetic mapping of loci underlying field resistance to soybean sudden death syndrome (SDS). *Crop Science*. 1996;36(2):393-400. DOI: 10.2135/cropsci1996.0011183X003600020030x

Idrees M., Irshad M. Molecular markers in plants for analysis of genetic diversity: A review. *European Academic Research*. 2014;2(1):1513-1540.

Iqbal M.J., Meksem K., Njiti V.N., Kassem M.A., Lightfoot D.A. Microsatellite markers identify three additional quantitative trait loci for resistance to soybean sudden-death syndrome (SDS) in Essex × Forrest RILs. *Theoretical and Applied Genetics*. 2001;102:187-192. DOI: 10.1007/s001220051634

Jackson E.W., Feng C., Fenn P., Chen P. Genetic mapping of resistance to purple seed stain in PI 80837 soybean. *Journal of Heredity*. 2008;99(3):319-322. DOI: 10.1093/jhered/esm123

Korsakov N.I., Makasheva R.H., Adamova O.P. Methodology for studying the collection of legumes (Metodika izucheniya kollektsii zernobobovykh kultur). Leningrad: VIR; 1968. [in Russian] (Корсаков Н.И., Макашева Р.Х., Адамова О.П. Методика изучения коллекции зернобобовых культур. Ленинград: ВИР; 1968).

Makulbekova A., Iskakov A., Kulkarni K.P., Song J.T., Lee J.D. Current status of future prospects of soybean production in Kazakhstan. *Plant Breeding and Biotechnology*. 2017;5:55-66. DOI: 10.9787/PBB.2017.5.2.55

Maui A.A., Sauranbaev B.N., Orazbaev K.I. Soybean pathogens in the south-east of Kazakhstan. *Journal of Humanities and Administrative Sciences*. 2016;5:20-26. DOI: 10.26449/JOSHAS.19

North Kazakhstan Region has started implementation of the Northern Soybean Program (V SKO nachata realizatsiya programmy “Severnaya Soya”). 2019. [in Russian] (В СКО начата реализация программы «Северная соя». 2019). Available from: https://www.zakon.kz/4971028-v-sko-nachata-realizatsiya-programmy.html [accessed May 20, 2020].

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

Rouf Mian M.A., Wang T., Phillips D.V., Alvernaz J., Boerma H.R. Molecular mapping of the *Rcs3* gene for resistance to frog-eye leaf spot in soybean. *Crop Science*. 1999;39(6):1687-1691. DOI: 10.2135/cropsci1999.3961687x

Singh R.K., Bhatia V.S., Bhat K.V., Mohapatra T., Singh N.K., Bansal K.C. et al. SSR and AFLP based genetic diversity of soybean germplasm differing in photoperiod sensitivity. *Genetics and Molecular Biology*. 2010;33(2):319-324. DOI: 10.1590/s1415-47572010005000024

U.S. Department of Agriculture. An official website of the United States government. 2020. Available from: http://usda.gov/ [accessed May 20, 2020].

Voorrips R.E. MapChart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *Journal of Heredity*. 2002;93(1):77-78. DOI: 10.1093/jhered/93.1.77

Wang D., Diers B.W., Arelli P.R., Shoemaker R.C. Loci underlying resistance to Race 3 of soybean cyst nematode in *Glycine soja* plant introduction 468916. *Theoretical and Applied Genetics*. 2001;103(4):561-566. DOI: 10.1007/pl00002910

Wang L.X., Guan R., Zhangxiong L., Chang R., Qiu L. Genetic diversity of Chinese cultivated soybean revealed by SSR markers. *Crop Science*. 2006;46(3):1032-1038. DOI: 10.2135/cropsci2005.0051

Wrather J.A., Anderson T.R., Arsyad D.M., Gai J., Ploper L.D., Porta-Puglia A. et al. Soybean disease loss estimates for the top 10 soybean producing countries in 1994. *Plant Diseases*. 1997;81(1):107-110. DOI: 10.1094/PDIS.1997.81.1.107

Zatybekov A., Abugalieva S., Didorenko S., Rsaliyev A., Turuspekov Y. GWAS of a soybean breeding collection from South East and South Kazakhstan for resistance to fungal diseases. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(5):536-543. DOI: 10.18699/VJ18.392

Zatybekov A.K., Abugalieva S.I., Didorenko S.V., Turuspekov Y.K. Genetic bases of soybean resistance to fungal diseases (Geneticheskiye osnovy ustoychivosti soi k gribkovym boleznyam). *Issledovaniya, rezultaty. KazNAU = Research, Results. KazNAU*. 2017;1(73):128-140. [in Russian] (Затыбеков А.К., Абугалиева С.И., Дидоренко С.В., Туруспеков Е.К. Генетические основы устойчивости сои к грибковым болезням. *Исследования, результаты. КазНАУ*. 2017;1(73):128-140).

Zatybekov A.K., Agibaev A.Z., Didorenko S.V., Abugalieva S.I., Turuspekov Y.K. Analysis of resistance to *Septoria glycines* in soybean world collection harvested in South-Eastern Kazakhstan. *News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of Agricultural Sciences*. 2018;5(47):44-52. DOI: 10.32014/2018.2224-526X.6

Zhong C., Sun S., Yao L., Ding J., Duan C., Zhu Z. Fine mapping and identification of a novel Phytophthora root rot resistance locus *RpsZS18* on chromosome 2 in soybean. *Frontiers in Plant Science*. 2018;9:44. DOI: 10.3389/fpls.2018.00044

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

Затыбеков А.К., Туруспеков Е.К., Досжанова Б.Н., Абугалиева С.И. Изучение генетического разнообразия мировой коллекции сои с использованием микросателлитных маркеров, связанных с устойчивостью к грибным болезням. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(3):81-90. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-81-90

Zatybekov A.K., Turuspekov Y.T., Doszhanova B.N., Abugalieva S.I. A study of the genetic diversity in the world soybean collection using microsatellite markers associated with fungal disease resistance. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(3):81-90. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-81-90

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/10.30901/2227-8834-2020-3-81-90

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
Zatybekov A.K. https://orcid.org/0000-0003-4310-5753
Turuspekov Y.T. https://orcid.org/0000-0001-8590-1745
Doszhanova B.N. https://orcid.org/0000-0002-5085-7657
Abugalieva S.I. https://orcid.org/0000-0002-9748-507X

Молекулярно-генетическая характеристика образцов брокколи (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck) коллекции ВИР

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-91-99
УДК 631.527:575.22
Поступление/Received: 23.03.2020
Принято/Accepted: 21.09.2020

Molecular genetic characteristics of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck) from the VIR collection

Д. А. ФАТЕЕВ*, А. М. АРТЕМЬЕВА

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44
** dmtfateev@gmail.com*

D. A. FATEEV*, A. M. ARTEMYEVA

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia
** dmtfateev@gmail.com*

Актуальность. Брокколи – скороспелая, урожайная овощная культура, ценная по содержанию многих биологически активных соединений и минеральных элементов. В 2020 г. в Госреестре РФ зарегистрировано 47 гибридов и 8 сортов брокколи, среди них 14 сортов и гибридов российской селекции. Необходимость совершенствования сортимента по целому ряду актуальных направлений селекции требует привлечения новых эффективных методов, в том числе методов маркер-вспомогательной селекции и ассоциативного картирования. Оценка коллекции брокколи ВИР с использованием молекулярно-генетических маркеров позволит предоставить новый исходный материал для селекции улучшенных сортов. **Материалы и методы**. Проведено молекулярно-генетическое исследование 39 сортов и гибридных популяций брокколи различного географического происхождения, отличающихся по биологическим особенностям и направлениям использования. Для анализа были отобраны 35 маркеров микросателлитных последовательностей, специфичных для генома *Brassica* L. **Результаты и заключение**. С помощью использованных праймеров идентифицировано 110 полиморфных фрагментов. В изученных локусах идентифицировано от трех до семи аллелей. Показатель дискриминационной силы маркеров варьировал от 0,75 до 0,96 и в среднем составил 0,91, среднее число фрагментов на маркер – 4,4. У исследованных образцов выявлено 10 уникальных и 12 редких (встречающихся менее чем у 8% образцов) аллелей. В то же время аллель локуса BC65 длиной 201 пн обнаружен у 95% образцов, то есть был практически общим. Все использованные маркеры имеют достаточно высокую диагностическую ценность для анализа генетического полиморфизма и могут быть использованы для ДНК-идентификации сортов брокколи. Анализ генетического сходства коллекционных образцов, выполненный методом Unweighted Neighbor-Joining в программе DarWin, позволил выявить четыре близкородственных кластера в изученной выборке генотипов.

Ключевые слова: SSR-маркеры, генетическое разнообразие, ДНК-идентификация.

Background. Broccoli is an early-ripening vegetable crop that contains many biologically active compounds and mineral elements. According to the Genesys database, the global genebank collections contain no more than 465 different broccoli accessions. Fourteen cultivars and hybrids developed in Russia are registered in the State Register of the Russian Federation. The need to improve the assortment in a number of important breeding target areas (small habitus, non-spawning, bud size, disease resistance, etc.) requires the use of new effective techniques, including marker-assisted selection methods and association mapping. In this regard, it seems relevant to evaluate the VIR collection of broccoli using molecular genetic markers, which will provide new source material for breeding. **Materials and methods**. A molecular genetic study involved 39 broccoli cultivars and hybrid populations of different geographical origin, with various biological characteristics, and for various uses. For the analysis, 35 markers of microsatellite sequences specific to the *Brassica* L. genome were selected. PCR products were separated by electrophoresis on a 3% agarose gel. **Results and conclusions**. As a result, 110 polymorphic fragments were identified. In the studied loci, 3 to 7 alleles were pinpointed. The discriminating power of markers ranged from 0.75 to 0.96, and averaged 0.91; the average number of fragments per marker was 4.4. Ten unique alleles and 12 rare alleles (found in less than 8% of the samples) were observed in the studied accessions. On the other hand, the 201 bp allele of the locus BC65 was found in 95% of accessions, that is, it was almost common. All used markers have a sufficiently high diagnostic value and can be recommended for DNA identification in broccoli cultivars. An analysis of the genetic similarity of the collection accessions, carried out in the DarWin program using the Unweighted Neighbor-Joining method, made it possible to establish four closely related clusters.

Key words: SSR markers, genetic diversity, DNA identification.

Введение

Род *Brassica* L. (Капуста) семейства Brassicaceae Burnett включает представителей кормовых, овощных и масличных сельскохозяйственных культур. Растения капусты огородной (*B. oleracea* L.) отличаются высокой значимостью для рациона населения, содержат ценные питательные и биологически активные вещества, витамины и минеральные элементы. Вид является удобным объектом для молекулярно-генетических исследований; геном его был секвенирован в 2014 г. (Liu et al., 2014).

Брокколи – *B. oleracea* L. convar. *botrytis* (L.) Alef. var. *italica* Plenck (syn. *B. oleracea* L convar. *botrytis* (L.) Alef. var. *cymosa* Duch.) (ветвистая брокколи, спаржевая капуста) – является разновидностью капусты огородной и родоначальной формой плотноголовчатой цветной капусты. Брокколи произошла от итальянской листовой капусты, которую отбирали на раннее цветение, при интрогрессии генетического материала критской капусты *B. cretica* Lam. (Artemyeva, Solovieva, 2018). В начале XVIII века итальянские иммигранты привезли семена брокколи в Северную Америку, откуда эта культура распространилась по странам Северной Европы и Японии. Считается, что брокколи обладает узкой генетической основой, поскольку долгое время культивировалась исключительно в Средиземноморье. Только в начале XX века началось широкое возделывание брокколи в Северной Америке, Северной Европе и странах Азии.

Коллекция брокколи ВИР насчитывает 126 образцов. Стержневая коллекция, отражающая разнообразие культуры по происхождению и типу использования, включает 39 образцов, сортовых и гибридных популяций. Определение уровня генетического полиморфизма коллекционных образцов, оценка их родственных взаимосвязей необходимы для разработки систем идентификации и паспортизации, а также поиска молекулярных маркеров, ассоциированных с хозяйственно ценными признаками. Микросателлитные (SSR) маркеры использовались для изучения разнообразия капустных культур (Lowe et al., 2002; Piquemal et al., 2005), составления генетических карт на основе картирующих популяций у *B. oleracea* (Walley et al., 2012) и *B. rapa* L. (Lou et al., 2007), для ассоциативного картирования хозяйственно ценных признаков у *B. rapa* (Artemyeva et al., 2013). Получены данные о генетических взаимоотношениях как между разновидностями капусты, так и среди сортов этих разновидностей (Tonguç, Griffiths, 2004). Филогенетические связи между разновидностями капусты огородной из коллекции ВИР были установлены на основе изменчивости микросателлитов в работе А. М. Артемьевой с соавторами (Artemyeva et al., 2009). В исследовании южнокорейских ученых (Izzah et al., 2013) с помощью микросателлитных маркеров проанализирован 91 коммерческий образец *B. oleracea* и были выявлены генетические связи между представителями шести различных сортотипов. Изучение изменчивости микросателлитных локусов селекционных форм капусты белокочанной позволило классифицировать российские образцы (Shapturenko et al, 2016; Domblides A.S. et al, 2018). В то же время генетическое разнообразие коллекции брокколи с использованием молекулярно-генетических маркеров до сих пор не изучено.

Цель настоящей работы заключалась в изучении генетического разнообразия сортов и гибридных популяций брокколи и оценке эффективности использования подобранного нами набора микросателлитных маркеров для анализа генетического полиморфизма. В настоящей работе SSR-маркеры впервые использованы для оценки межсортового полиморфизма, определения уровня генетического сходства между образцами стержневой коллекции брокколи из коллекции ВИР.

Материалы и методы

Для молекулярного анализа была использована стержневая коллекция брокколи ВИР. Коллекция включала 39 сортов и гибридных популяций, имеющих различное географическое происхождение, в частности сорта селекции России, Японии, Швеции, США, Канады, Нидерландов (табл. 1). Тотальную ДНК выделяли из навески листьев пяти растений с помощью набора Сорб-ГМО-Б (Синтол, Россия), согласно рекомендациям производителя (для выделения ДНК используется кремниевый сорбент и ионный детергент CTAB). В исследовании использовали 35 SSR-маркеров. Информация о названиях SSR-маркеров, последовательности праймеров, размере и числе выявленных аллелей, а также их хромосомной локализации были получены из базы данных маркеров овощных культур VegMarks (https://vegmarks.nivot.affrc.go.jp) (табл. 2). Праймеры синтезированы компанией «Евроген» (Россия).

Состав реакционной смеси (конечный объем 20 мкл) был следующий: 1 х ПЦР буфера, 1,5 ммоль $MgCI_2$, 200 мкмоль каждого из dNTP, 0,2 мкмоль каждого из праймеров, 20–50 нг ДНК и 1 е.а. Taq ДНК-полимеразы (Евроген). ПЦР проводили при следующих условиях: 1 цикл – 5 мин при 94°C; далее 36 циклов, включающих: 45 с при 94°C, 45 с при 60°C, 45 с при 72°C; заключительная элонгация – 5 мин при 72°C. Температура отжига для каждой пары праймеров подбиралась индивидуально, поскольку предложенная по литературным данным температура не всегда позволяла пройти амплификации результативно. Фрагменты ПЦР разделяли в 3% агарозном геле. Размер фрагментов рассчитывали с помощью компьютерной программы ImageLab® Software v6.0.1 относительно стандартных образцов ДНК известной длины. Характеристика полиморфных микросателлитных локусов была получена с помощью программы iMec – Online Marker Efficiency Calculator (Amiryousefi et al., 2018). Были рассчитаны следующие показатели эффективности маркеров:

H – ожидаемая гетерозиготность, вероятность того, что образец является гетерозиготным по данному локусу в популяции

$$H = 1\sum p_i^2$$

где p_i – частота *i*-го локуса среди общего числа *I* локусов);

PIC – мера информационного полиморфизма, определяется способностью маркера устанавливать полиморфизм в популяции в зависимости от числа обнаруживаемых аллелей и распределения их частот

$$PIC = 1 - \sum p_i^2 - \sum \sum p_i^2 p_j^2$$

где p_i и p_j – частота i-го и j-го локуса. Первое суммирование – по общему количеству аллелей, тогда как два последующих суммирования обозначают все *i* и *j*, где $i \neq j$);

E – эффективное мультиплексное отношение, определяется как произведение общего числа полиморфных

Таблица 1. Список изученных образцов
Table 1. The list of the accessions studied

№ по каталогу ВИР	Название	Происхождение	№ по каталогу ВИР	Название	Происхождение
к-190	Green Sprouting early	США	к-302	El Centro	Великобритания
к-192	Green Sprouting 47	США	к-303	Charade (F1)	Япония
к-196	Coastle 57051A	Канада	к-304	Decathlon (F1)	Нидерланды
к-211	Burpees green bud	США	к-305	Monterey (F1)	Япония
к-212	Coastle 87038	Канада	к-306	Pentathlon (F1)	Япония
к-252	Тонус	ВНИИССОК	к-309	Medway (F1)	Нидерланды
к-276	Бонанза	США	к-310	Nutri-bud	США
к-284	Hybrid Express Corona	Япония	вр.к-159	Sureen	Нидерланды
к-285	Clippere #73367 (F1) R.S.	Нидерланды	вр.к-194	Fordgook Late Hybrid	Новая Зеландия
к-289	Violet Queen (F1) Purple	США	вр.к-202	Packman (F1)	США
к-290	Денди Эрли (F1)	Япония	вр.к-277	Green Goliath	США
к-291	Arcadia (F1)	Япония	вр.к-326	Patriot (F1)	Япония
к-292	Emerald City (F1)	Япония	вр.к-332	Agassi (F1)	Нидерланды
к-295	Southern Comet Hybrid	Япония	вр.к-333	25-91 RZ	Нидерланды
к-296	Cape Queen (F1)	Япония	вр.к-335	OPV-12317	Испания
к-297	Marathon (F1)	Япония	вр.к-341	Lufeng	Нидерланды
к-298	Everest (F1)	Канада	вр.к-347	Brodway (F1)	Нидерланды
к-299	Comanche (F1)	Япония	вр.к-350	Furio	Нидерланды
к-300	Senshi (F1)	Япония	вр.к-353	Red head	Финляндия
к-301	Triathlon (F1)	Япония		Out group (пекинская капуста)	

локусов (на праймер) и доли полиморфных локусов от их общего числа

$$E = n_p \left(n_p / n\right)$$

где n_p – число полиморфных локусов, n – общее число локусов. Чем выше значения E, тем эффективней система «праймер – маркер»;

D – дискриминационная сила, вероятность того, что два случайно выбранных образца демонстрируют разные закономерности формирования аллельного профиля и, таким образом, отличаются друг от друга

$$D = 1 - \sum g_i^2$$

где g_i – частота встречаемости i-го генотипа;

R – разрешающая способность; основана на распределении аллелей среди выбранных генотипов; сильно коррелирует со способностью различать анализируемые образцы. Разделение образцов на две группы основано на наличии или отсутствии фрагмента, присутствующего в одной части образцов и отсутствующего в другой

$$R = \sum I_b$$

где I_b = 1-(2*0.5-p) – информативность локуса, p – доля особей, у которых выявлен локус I.

Дендрограмма генетического сходства сортов и гибридных популяций получена с помощью программы DarWin методом Unweighted Neighbor-Joining. С использованием программы STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al., 2000; Falush et al. 2003) была определена генотипическая структура изученной выборки образцов. Для выбора оптимального K (генетические группы), где 2 ≤ K ≤ 6, использовался логарифм правдоподобия LnPD

Таблица 2. Полиморфные молекулярно-генетические маркеры, использованные в исследовании
Table 2. Polymorphic molecular genetic markers used in the study

Локус	Группа сцепления	Мотив	Последовательность 5'–3'	Ожидаемая длина фрагмента, пн.	Источник
BC7	C05	(ACC)6	F: AGTTGGCCCCATTTCATTGTTAT R: CATCTTGACGGCCTCCATCTCCA	153	Ma Ron-gcai (2007)
BC38	R03	(ATC)7... (AAG)5	F: CTTTTGCTGCCCGACGAGA R: AGGAAGCAGGAAAGAGATAAAAG	198	Ma Ron-gcai (2007)
BC46	R01	(GAA)6	F: AGGTTTCGAGGTTTGTGGCTTCT R: CTAAACTCATCGCTTCCGTAAACA	184	Ma Ron-gcai (2007)
BC48	R02	(TCT)7	F: GGTGGTGGGCTGGGGAGTA R: CGTCGATCGATTCATAACCGTAGA	237	Ma Ron-gcai (2007)
BC51	R06	(GAA)6	F: CCGAGGAAGAAAGCTGTTGAGTTG R: ATCGCTTCCGTAGACACCTTCGTT	154	Ma Ron-gcai (2007)
BC65	R04	(AG)7	F: TTCCGTCCCTTCCCTAAACAA R: TGAACACTACTGCCCAGAGAACAC	200	Ma Ron-gcai (2007)
BC89	R06	(AG)7	F: CGTCCGTAGCGCTATTTTTCAGA R: ACGTTGTCGATCGCCCAGTTC	199	Ma Ron-gcai (2007)
Bras069	R10	Нет информации	F: CTCGATCTTCCCCTGCTTTC R: GTTGAGCCAATCTACGGTTCC	199	Piquemal et al. (2005)
BRMS019	R10	(GT)10	F: CCCAAACGCTTTTGACACAT R: GGCACAATCCACTCAGCTTT	241	Suwabe et al. (2006)
BRMS051	R9	(TC)15	F: GGCCAAGCCACTACTGCTCAGA R: GCGGAGAGTGAGGGAGTTATGG	262	Suwabe et al. (2006)
BRMS071	C03	(TC)5(TC)28	F: AAAGCGAGAAAGTGCAGTTGAGAG R: CCACGAAACTACTGCAGATTGAAA	256	Suwabe et al. (2006)
KS31100	Нет информации	Нет информации	F: ATAAGGGCATCGCCTCAACA R: TGCACGCATCCACATAAACA	233	Suwabe et al. (2006)
KS50200	Нет информации	Нет информации	F: ACTAGGGCATCGCCTCAACC R: TGCACGCAGCATATAAAC	148	Suwabe et al. (2006)
Na10D09	C04	Нет информации	F: AAGAACGTCAAGATCCTCTGC R: ACCACCACGGTAGTAGAGCG	273	Lowe et al. (2002)
Na10c03	R1	Нет информации	F: TTGGGTGTCTTTGTTACCCC R: ACCGAGAAGACTGATACGGG	304	Lowe et al. (2002)
Na12c03	C02	Нет информации	F: ATCGTTGCCATTAGGAGTGG R: ACCAAATTAACCCTCTTTGC	272	Lowe et al. (2002)
Na12c08	Нет информации	$(GA/CT)_{50}$	F: GCAAACGATTTGTTTACCCG R: CGTGTAGGGTGATCTAGATGGG	315	Lowe et al. (2002)
Ol11B05	C03	Нет информации	F: TCGCGACGTTGTTTTGTTC R: ACCATCTTCCTCGACCCTG	115	Lowe et al. (2002)
Ol11H06	R9	Нет информации	F: TCCGAACACTCTAAGTTAGCTCC R: TTCTTCACTTCACAGGCACG	198	Lowe et al. (2002)
Ol12A04	R10	$(GA/CT)_{17}$	F: TGGGTAAGTAACTGTGGTGGC R: AGAGTTCGCATACTCTGGAGC	138	Lowe et al. (2002)
Ol10D08	C09	Нет информации	F: TCCGAACACTCTAAGTTAGCTCC R: GAGCTGTATGTCTCCCGTGC	201	Lowe et al. (2003)
Ol12G04	C08	Нет информации	F: CGAACATCTTAGGCCGAATC R: GGTTAACCTGCGGGATATTG	157	Lowe et al. (2002)
Ra2E12	C06	Нет информации	F: TGTCAGTGTGTCCACTTCGC R: AGAGAAACCCAATAAAGTAGAACC	148	Lowe et al. (2002)
Ra2G09	C02	Нет информации	F: ACAGCAAGGATGTGTTGACG R: GATGAGCCTCTGGTTCAAGC	254	Lowe et al. (2002)

с помощью приложения Clumpak, в котором применяется метод Evanno для определения наиболее вероятного числа генетических групп.

Результаты и обсуждение

Двадцать пять из 35 изученных SSR-локусов оказались полиморфными в изученной выборке генотипов. С помощью специфичных для них праймеров было выявлено 110 полиморфных фрагментов (табл. 3). Одним из главных параметров, определяющих меру информативности маркеров, является мера информационного полиморфизма PIC. Для выбранных маркеров значения ожидаемой гетерозиготности (H) и PIC не могут превышать 0,5, поскольку для расчетов используется бинарная матрица наличия или отсутствия полиморфного фрагмента. Для отобранных нами локусов значение PIC варьировало от 0,268 до 0,375 и в среднем составило 0,316. Наиболее информативными (PIC > 0,35) оказались локусы BC7, BC51, BC65, KS50200, Ol11B05, которые

Таблица 3. Характеристика полиморфных микросателлитных локусов, выявленных у образцов брокколи

Table 3. Characterization of polymorphic microsatellite loci identified in broccoli

Локус	Размер фрагментов (от...до)	Число аллелей	H	PIC	E	D	R
BC7	105–195	6	0,462	0,355	2,175	0,869	2,25
BC38	144–254	5	0,379	0,307	1,275	0,935	2,15
BC46	108–184	3	0,444	0,345	1,000	0,890	0,100
BC48	139–215	4	0,429	0,337	1,25	0,903	1,90
BC51	99–171	2	0,500	0,375	1,000	0,753	0,100
BC65	162–246	3	0,493	0,371	1,325	0,807	0,750
BC71	158-220	4	0,438	0,342	1,30	0,895	1,90
BC89	137–205	6	0,304	0,258	1,125	0,965	0,250
Br372	162–252	3	0,449	0,348	1,025	0,885	1,55
Bras069	107–217	4	0,424	0,334	1,225	0,907	1,650
BRMS019	102–182	4	0,381	0,308	1,025	0,935	1,75
BRMS051	132–198	3	0,444	0,345	1,00	0,890	1,200
BRMS071	106–190	6	0,324	0,272	1,225	0,958	2,45
KS31100	241–272	5	0,331	0,276	1,05	0,956	0,7
KS50200	122–244	2	0,500	0,375	1,000	0,753	0,100
Na10D09	101–193	5	0,369	0,301	1,225	0,940	1,95
Na12c08	124–254	5	0,389	0,313	1,325	0,930	2,650
Na12H09	170–296	7	0,352	0,290	1,8	0,948	3,0
Ol11B05	96–218	3	0,476	0,362	1,175	0,848	0,45
Ol12F02	151–307	5	0,348	0,287	1,125	0,950	2,15
Ol12A04	168–266	5	0,301	0,256	0,92	0,966	1,75
Ol10D08	183–285	6	0,339	0,281	1,3	0,954	1,5
Ol12G04	122–202	5	0,320	0,268	1,000	0,960	2,00
Ra2E12	100–178	5	0,320	0,268	1,000	0,960	2,000
Ra2G09	143–215	4	0,391	0,322	1,025	0,905	1,75
Средние значения		4,4	0,396	0,315	1,188	0,906	1,52

Примечание: **H** – ожидаемая гетерозиготность; **PIC** – мера информационного полиморфизма;
E – эффективное мультиплексное отношение; **D** – дискриминационная сила; **R** – разрешающая способность
Note: **H** – expected heterozygosity; **PIC** – polymorphism of the information content;
E – effective multiplex ratio; **D** – discriminating power; **R** – resolving power

также характеризовались высокими значениями ожидаемой гетерозиготности. Показатель ожидаемой гетерозиготности (H) варьировал от 0,301 до 0,5 и в среднем составил 0,396. Значения эффективного мультиплексного отношения (E) варьировали от 0,258 до 1,3 и в среднем составили 1,12. Праймеры, с помощью которых амплифицировалось большое число полиморфных фрагментов, отличались наиболее высокими значениями E. Показатель дискриминационной силы маркеров (D) варьировал от 0,753 до 0,966 и в среднем составил 0,91. Разрешающая способность (R) варьировала от 0,1 до 3,0 и в среднем составила 1,52.

Наименее полиморфными оказались локусы KS50200 и BC51, имевшие по два аллеля. Максимальное число аллелей (7) выявлено в локусе Na12H09 (см. табл. 3). Среднее число идентифицированных аллелей на локус составило 4,4. Сорта голландской селекции оказались менее полиморфными (в среднем 1,2 фрагмента на маркер), чем сорта селекции Японии и США (в среднем 1,4 фрагмента на маркер). В общей сложности у 39 образцов выявлено 10 уникальных аллелей и 12 редких аллелей (встречаются у трех образцов). Уникальные аллельные профили отмечены у образцов: ‘Green Sprouting early’ и ‘Hybrid Express Corona’ (локус Ol10D08), ‘Marathon’ (F1) (KS31100), ‘Southern Comet Hybrid’ (Ol12F02), ‘Cape Queen (F1)’ (BC7), ‘Furio’ (Ol12A04), ‘Green Goliath’ (Ra2E12), ‘Coastle 87038’ (BC89), ‘Burpees green bud’ (BC89) (рис. 1, 2). Число редких аллелей составило от одного до трех в зависимости от локуса. Частота встречаемости отдельных аллелей была очень высокой. Так, аллель 241 пн локуса KS31100 длиной 241 пн был представлен у 84% исследованных образцов, а аллель 201 пн локуса BC65 встречался у 95% образцов. При этом общее число аллелей, выявленное с помощью данных маркеров, составило 5 и 3 соответственно. Аллели 160 пн (локус BC46), 150 пн (BC51), 205 пн (BC89), 153 пн (Ol11B05) встречались у всех исследуемых образцов. Возможно, они являются специфичными для культуры.

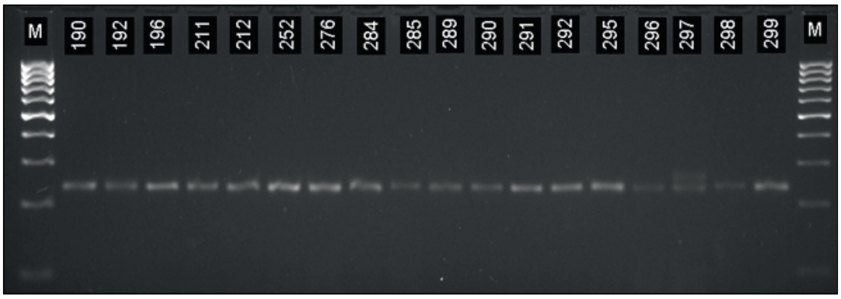


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации ДНК образцов брокколи с праймерами к локусу KS31100. Сверху обозначены номера каталога образцов: 190 – Green Sprouting early, **192** – Green Sprouting 47, **196** – Coastle 57051A, **211** – Burpees green bud, **212** – Coastle 87038, **252** – Тонус, **276** – Бонанза, **284** – Hybrid Express Corona, **285** – Clippere #73367 (F1) R.S., **289** – Violet Queen (F1) Purple, **290** – Денди Эрли (F1), **291** – Arcadia (F1), **292** – Emerald City (F1), **295** – Southern Comet Hybrid, **296** – Cape Queen (F1), **297** – Marathon (F1), **298** – Everest (F1), **299** – Comanche (F1). **М** – маркер молекулярного веса ДНК 100 пн

Fig. 1. The electrophoregram of genomic DNA amplification products in broccoli with the primer KS31100. Presented above are the catalogue numbers of the accessions: 190 – Green Sprouting early, **192** – Green Sprouting 47, **196** – Coastle 57051A, **211** – Burpees green bud, **212** – Coastle 87038, **252** – Tonus, **276** – Bonanza, **284** – Hybrid Express Corona, **285** – Clippere #73367 (F1) R.S., **289** – Violet Queen (F1) Purple, **290** – Dandy Early (F1), **291** – Arcadia (F1), **292** – Emerald City (F1), **295** – Southern Comet Hybrid, **296** – Cape Queen (F1), **297** – Marathon (F1), **298** – Everest (F1), **299** – Comanche (F1). **M** – 100 bp DNA molecular weight marker

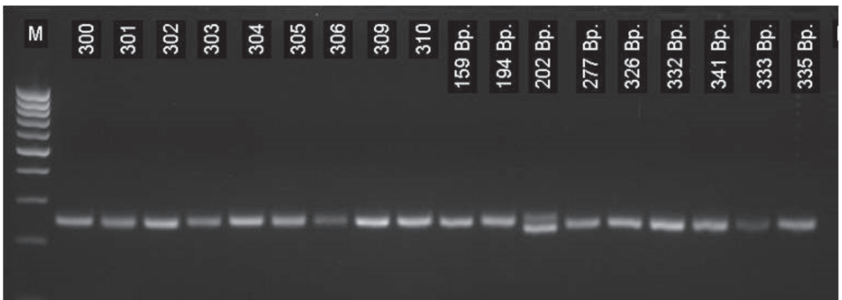


Рис. 2. Электрофореграмма продуктов амплификации ДНК образцов брокколи с праймерами к локусу Ol12A04 образцов брокколи: 300 – Senshi (F1), **301** – Triathlon (F1), **302** – El Centro, **303** – Charade (F1), **304** – Decathlon (F1), **305** – Monterey (F1), **306** – Pentathlon (F1), **309** – Medway (F1), **310** – Nutri-bud, **159 вр.** – Sureen, **194 вр.** – Fordhook Late Hybrid, **202 вр.** – Packman (F1), **277 вр.** – Green Goliath, **326 вр.** – Patriot (F1), **332 вр.** – Agassi (F1), **333 вр.** – 25-91 RZ, **335 вр.** – OPV-12317. **М** – маркер молекулярного веса ДНК 100 пн

Fig. 2. The electrophoregram of genomic DNA amplification products in broccoli with the primer Ol12A04. Presented above are the catalogue numbers of the accessions: 300 – Senshi (F1), **301** – Triathlon (F1), **302** – El Centro, **303** – Charade (F1), **304** – Decathlon (F1), **305** – Monterey (F1), **306** – Pentathlon (F1), **309** – Medway (F1), **310** – Nutri-bud, **159 вр.** – Sureen, **194 вр.** – Fordhook Late Hybrid, **202 вр.** – Packman (F1), **277 вр.** – Green Goliath, **326 вр.** – Patriot (F1), **332 вр.** – Agassi (F1), **333 вр.** – 25-91 RZ, **335 вр.** – OPV-12317. **M** – 100 bp DNA molecular weight marker

Данные о составе аллелей, выявляемых с помощью 25 SSR-маркеров, были использованы для построения дендрограммы генетического сходства сортов и гибридных популяций стержневой коллекции брокколи (рис. 3).

На дендрограмме выделились четыре больших кластера. Образцы, входящие в состав кластеров, различались размером головки, а также наличием/отсутствием и количеством пасынков. В первом кластере расположены самые позднеспелые образцы, образующие одну крупную головку. Во второй кластер вошли в основном скороспелые образцы. В третьем кластере находились образцы среднеспелые, образующие одну головку среднего размера. В четвертом кластере расположились образцы с высокой пасынкообразовательной способностью. Значение PIC не превышало 0,38, что могло быть обусловлено как особенностью культуры брокколи (ее узкой генетической основой), так и составом анализируемой коллекции.

Анализ распределения генотипов в программе STRUCTURE показывает, что наиболее вероятным оказывается разделение исследуемой популяции на четыре кластера (K = 4), которые соответствуют четырем группам генотипов (рис. 4).

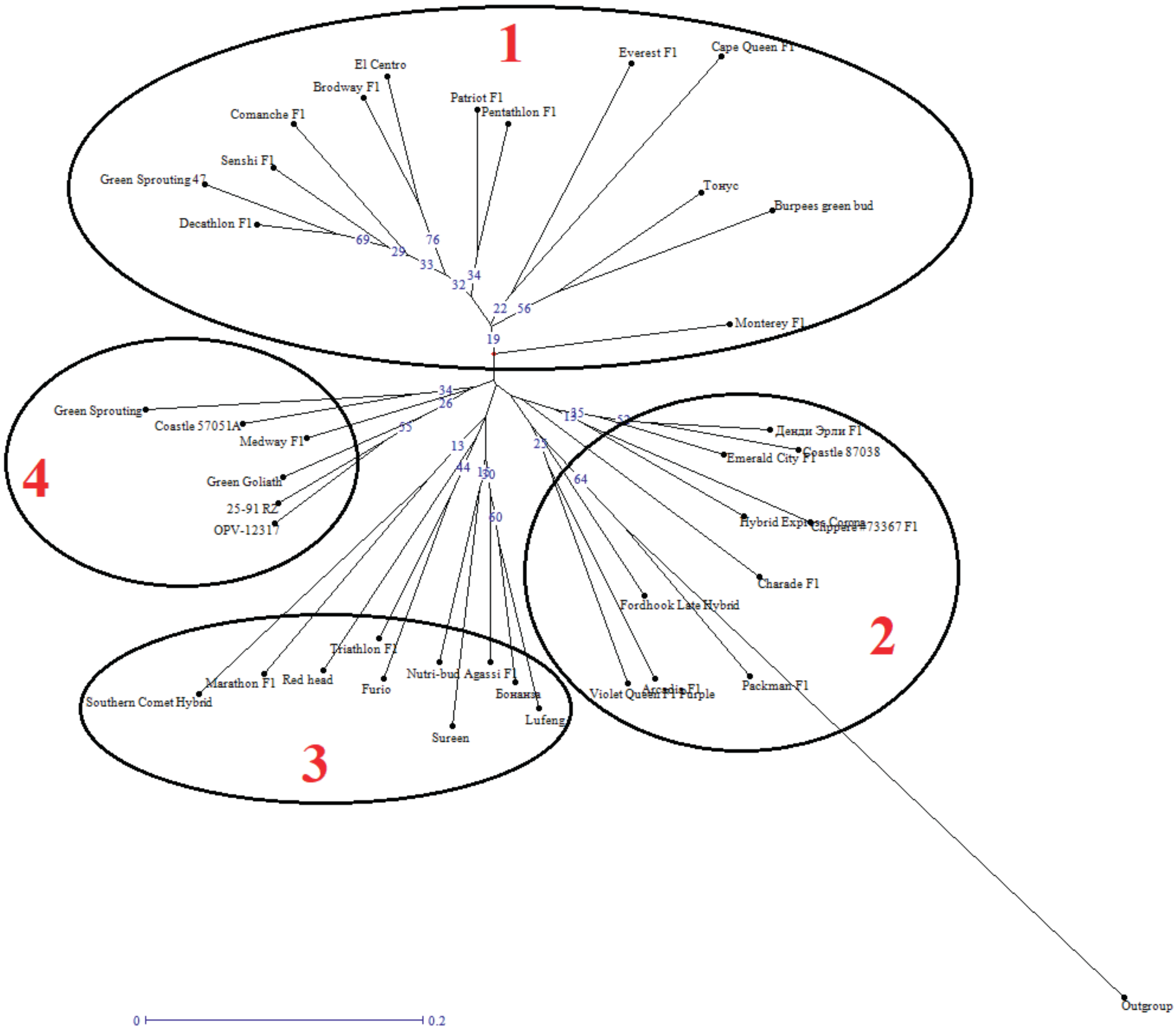


Рис. 3. Дендрограмма кластеризации образцов брокколи, построенная по результатам молекулярно-генетического анализа

Fig. 3. The dendrogram showing clustering of broccoli accessions based on molecular genetic analysis

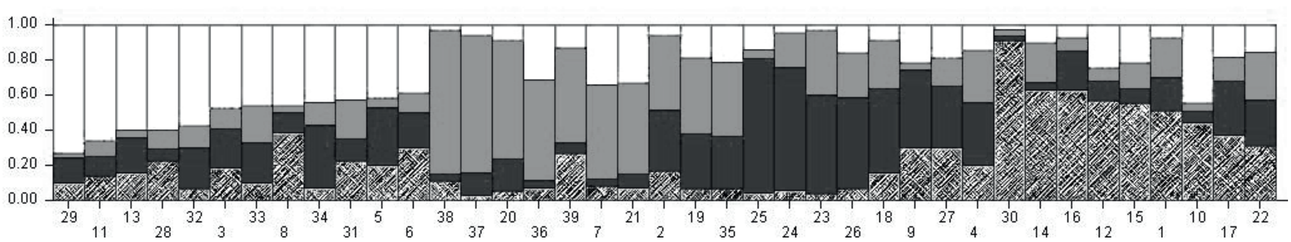


Рис. 4. Результаты определения генотипической структуры изученной выборки образцов в программе STRUCTURE 2.3.4

Fig. 4. The results of genotypic structure identification in the studied accessions via STRUCTURE 2.3.4 software

Заключение

Генотипирование 39 образцов стержневой коллекции брокколи (*B. oleracea* var. *italica*) с использованием 25 микросателлитных локусов позволило разделить изученную стержневую коллекцию на четыре группы, соответствующие морфологическим и фенологическим особенностям образцов. Первую группу составили образцы, характеризующиеся позднеспелостью и образующие одну крупную головку. Во второй группе сконцентрировались раннеспелые образцы, в третьей – среднеспелые, образующие одну головку среднего размера, а в четвертой – образцы с высокой пасынкообразовательной способностью. Результаты исследований показали, что сорта селекции Японии и США характеризуются большим полиморфизмом в сравнении с сортами европейской селекции. В сортах американской селекции выявлено наибольшее число редких и уникальных аллелей. У изученных образцов стержневой коллекции брокколи установлен высокий полиморфизм отдельных микросателлитных локусов. С помощью отобранного нами набора из 7 SSR-маркеров (Ol10D08, KS31100, Ol12F02, BC7, Ol12A04, Ra2E12, BC89) могут быть идентифицированы и паспортизированы 10 образцов брокколи. Полученные данные свидетельствуют об эффективности применения протестированных маркеров при оценке генетического разнообразия брокколи, а также при разработке методов идентификации и паспортизации сортов.

References/Литература

Amiryousefi A., Hyvönen J., Poczai P. iMEC: Online Marker Efficiency Calculator. *Applications in Plant Sciences*. 2018;6(6):e01159. DOI: e01159.10.1002/aps3.1159

Artemyeva A.M., Budahn H., Chesnokov Yu.V. Association mapping of morphological and physiological-biochemical traits in *Brassica rapa* L. species. *Russian Agricultural Sciences*. 2013;39(4):107-111. DOI: 10.3103/S1068367413020031

Artemyeva A.M., Klocke E., Chesnokov Yu.V. Molecular analysis of phylogenetic relationships of cabbage (*Brassica oleracea* L.). *Bulletin of the Vavilov Society of Geneticists and Breeders*. 2009;13(4):759-771. [in Russian] (Артемьева А.М., Клоке Э., Чесноков Ю.В. Анализ филогенетических связей вида *Brassica oleracea* L. (Капуста огородная). *Информационный вестник ВОГиС*. 2009;13(4):759-771).

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

Domblides A.S., Domblides E.A., Bondareva L.L., Pivovarov V.F. Classification of national variety accessions of cabbage *Brassica oleracea* L. with the use of SSR markers. *Vegetable Crops of Russia*. 2018;(5):9-12. [in Russian] (Домблидес А.С., Домблидес Е.А., Бондарева Л.Л., Пивоваров В.Ф. Классификация отечественных сортов капусты *Brassica oleracea* L. с использованием SSR-маркеров. *Овощи России*. 2018;(5):9-12). DOI: 10.18619/2072-9146-2018-5-9-12

Falush D, Stephens M, Pritchard J.K. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*. 2003;164(4):1567-1587.

Izzah N.K., Lee J., Perumal S., Park J.Y., Ahn K. Fu D. et al. Microsatellite-based analysis of genetic diversity in 91 commercial *Brassica oleracea* L. cultivars belonging to six varietal groups *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2013;60(7):1967-1986. DOI: 10.1007/s10722-013-9966-3

Liu S., Liu Y., Yang X., Tong C., Edwards D., Paterson A.H. et al. The *Brassica oleracea* genome reveals the asymmetrical evolution of polyploid genomes. *Nature Communications*. 2014;5:3930. DOI: 10.1038/ncomms4930

Lou P., Zhao J., Kim J.S., Shen S., Del Carpio D.P., Song X. et al. Quantitative trait loci for flowering time and morphological traits in multiple population of *Brassica rapa*. *Journal of Experimental Botany*. 2007;58(14):4005-4016. DOI: 10.1093/jxb/erm255

Lowe A.J., Jones A.E., Raybould A.F., Trick M, Moule C.J., Edwards K.J. Transferability and genome specificity of a new set of microsatellite primers among *Brassica* species of the U triangle. *Molecular Ecology Notes*. 2002;2(1):7-11. DOI: 10.1046/j.1471-8286.2002.00126.x

Lowe A.J., Moule C.L, Trick M., Edwards K.J. Efficient large-scale development of microsatellites for marker and mapping applications in *Brassica* crop species. *Theoretical and Applied Genetics*. 2004;108(6):1103–1112. DOI: 10.1007/s00122-003-1522-7

Piquemal J., Cinquin E., Couton F., Rondeau C., Seignoret E., Doucet I. et al. Construction of an oilseed rape (*Brassica napus* L.) genetic map with SSR markers. TAG. *Theoretical and Applied Genetics*. 2005;111(8):14-23. DOI: 10.1007/s00122-005-0080-6

Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. 2000;155(2):945-959.

Shapturenko M.N., Pechkovskaya T.V., Vakula S.I., Jakimovich A.V., Zabara Yu.M., Khotyleva L.V. Informative EST-SSR markers for genotyping and intraspecific differentiation of *Brassica oleracea* var. *capitata* L. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2016;20(1):51-56. [in Russian] (Шаптуренко М.Н., Печковская Т.В., Вакула С.И., Якимович А.В., Забара Ю.М., Хотылева Л.В. Информативные EST-SSR-маркеры для типирования и внутривидовой дифференциации *Brassica oleracea* var. *capitata* L. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016;20(1):51-56). DOI: 10.18699/VJ16.133

Suwabe K., Tsukazaki H., Iketani H., Hatakeyama K., Fujimura M., Nunome T. et al. Simple sequence repeat-based comparative genomics between *Brassica rapa* and *Arabidopsis thaliana* the genetic origin of clubroot resistance. *Genetics*. 2006;173(1):309-319. DOI: 10.1534/genetics.104.038968

Tonguç M., Griffiths P.D. Genetic relationships of *Brassica* vegetables determined using database derived simple sequence repeats. *Euphytica*. 2004;137(2):193-201. DOI: 10.1023/B:EUPH.0000041577.84388.43

VegMarks: A DNA marker database for vegetables. 2006-2020. Available from: https://vegmarks.nivot.affrc.go.jp/ [accessed Aug. 12, 2020].

Walley P.G., Carder J., Skipper E., Mathas E., Lynn J., Pink D. et al. A new broccoli × broccoli immortal mapping population and framework genetic map: tools for breeders and complex trait analysis. *Theoretical and Applied Genetics*. 2012;124(3):467-477. DOI: 10.1007/s00122-011-1721-6

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

Фатеев Д.А., Артемьева А.М. Молекулярно-генетическая характеристика образцов брокколи (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck) коллекции ВИР. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(3):91-99. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-91-99

Fateev D.A., Artemyeva A.M. Molecular genetic characteristics of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck) from the VIR collection. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(3):91-99. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-91-99

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/10.30901/2227-8834-2020-3-91-99

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
Fateev D.A. https://orcid.org/0000-0002-1075-6704
Artemyeva A.M. https://orcid.org/0000-0002-6551-5203

Эффективность SSR- и PawS-маркеров для оценки генетического полиморфизма сортов клевера лугового (*Trifolium pratense* L.)

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-100-109

УДК 57.577.21
Поступление/Received: 20.06.2020
Принято/Accepted: 21.09.2020

Efficiency of SSR and PawS markers for evaluation of genetic polymorphism among red clover (*Trifolium pratense* L.) cultivars

И. А. КЛИМЕНКО*, С. И. КОСТЕНКО, Ю. М. МАВЛЮТОВ, А. О. ШАМУСТАКИМОВА

Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В.Р. Вильямса, 141055 Россия, Московская обл., г. Лобня, Научный городок, корп. 1
** iaklimenko@mail.ru*

I. A. KLIMENKO*, S. I. KOSTENKO, YU. M. MAVLYUTOV, A. O. SHAMUSTAKIMOVA

Federal Williams Research Center of Forage Production and Agroecology, Bldg. 1, Scientific Campus, Lobnya, Moscow Province 141055, Russia
** iaklimenko@mail.ru*

Актуальность. Исследования по изучению генетической изменчивости, идентификации и паспортизации селекционных достижений актуальны в связи с сокращением сроков создания сортов и ежегодным ускоренным ростом их числа. С помощью методов на основе ДНК-маркеров разрабатывают генетический паспорт сорта, который может служить основанием для защиты авторских прав селекционеров, для контроля чистоты семенного материала. Представлены результаты исследований по оценке эффективности систем маркирования на основе SSR-локусов и PawS-маркеров для изучения ДНК-полиморфизма российских сортов клевера лугового с целью идентификации и последующей паспортизации. **Материалы и методы.** Геномную ДНК выделяли на основе SDS-метода с модификациями из 30 проростков от каждого сорта. Для ДНК-типирования использовали 9 SSR- и 4 PawS-маркера из семейства R173 ретротранспозонов. Анализ результатов проведен с помощью программ GelAnalyzer 2010a, MStools v.3, Statistica 7.0. **Результаты и заключение.** По результатам SSR-анализа выявлен невысокий средний уровень межсортового ДНК-полиморфизма клевера лугового – 38,6%. Обнаружены сортоспецифичные аллели для четырех образцов исследуемой выборки (‘Трифон’, ‘Топаз’, ‘Трио’, ‘Марс’) с использованием маркеров RCS1307 и RCS3095, которые могут служить для идентификации и разработки генетических паспортов. PawS-маркеры оказались неинформативны для анализа генетической изменчивости. Воспроизводимые продукты амплификации удалось получить лишь с комбинацией PawS5+PawS16, однако в ДНК-профилях не выявлено уникальных ампликонов для изучаемых сортов.

Ключевые слова: генетическое разнообразие, ДНК-полиморфизм, микросателлитные локусы, ретротранспозоны, молекулярно-генетическая паспортизация.

Background. Identification of crop varieties is presently one of the most important aspects due a significant annual increase in the number of newly developed cultivars. Application of molecular markers makes it possible to identify cultivars and secure protection of plant breeders’ rights. Marker techniques based on SSR loci and PawS markers were evaluated for their efficiency in revealing the DNA polymorphism in Russian red clover cultivars, and the research results are presented in this publication. **Materials and methods**. The total genome DNA was extracted by a modified SDS method from 30 seedlings per each cultivar. Nine simple sequence repeats (SSR) and 4 PawS markers were used for genotyping. The basic genetic diversity parameters were measured and analyzed using the software resources GelAnalyzer 2010a, MStools v.3, and Statistica 7.0. **Results and conclusion.** The mean level of intervarietal DNA polymorphism in red clover was 38.6%. Cultivar-specific amplicons were obtained for 4 accessions (cvs. ‘Trifon’, ‘Topaz’, ‘Trio’ and ‘Mars’) with SSR loci RCS1307 and RCS3095. These loci were found appropriate for identification and certification of such cultivars. The tested PawS markers (individually and in combinations) proved non-informative for the analysis of intervarietal DNA polymorphism in red clover. The only primer pair PawS5+PawS16 generated reproducible PCR products, but unique amplicons were absent in the DNA profiles. The data obtained in this study may be helpful for further identification and certification of Russian red clover cultivars and promising breeding materials.

Key words: genetic diversity, DNA polymorphism, microsatellite loci, retrotransposons, molecular-genetic certification.

Введение

Клевер луговой (*Trifolium pratense* L.) возделывается практически во всех регионах нашей страны и используется в сельскохозяйственном производстве не только в качестве источника высокоэнергетических белковых кормов для животных, но и как прекрасный предшественник пшеницы, льна, картофеля, ржи и других культур севооборота. Велика его роль в биологизации земледелия – в сохранении и повышении плодородия почв за счет обогащения их симбиотическим азотом, защите от водной и ветровой эрозии (Novoselov, 2015). Определяющее значение в реализации потенциальных возможностей любой культуры принадлежит сорту. В последние годы проводится интенсивная селекционная работа по созданию новых высокопродуктивных сортов клевера лугового с использованием современных методов селекции и включением в селекционный процесс перспективных источников исходного материала. Только в Федеральном научном центре кормопроизводства и агроэкологии имени В.Р. Вильямса (ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса») создано 14 сортов клевера лугового нового поколения, сочетающих хозяйственно ценные признаки с адаптивностью к конкретным условиям культивирования. Для повышения эффективности селекционного процесса, совершенствования системы идентификации и регистрации сортового материала и гарантированной защиты авторских прав необходима надежная система маркирования селекционных достижений. Наряду с традиционными методами, основанными на оценке морфологических и биохимических признаков, для этих целей все чаще используются молекулярные ДНК-маркеры. Они позволяют проводить идентификацию генотипов, сортов, форм и гибридов независимо от внешних условий, выявлять скрытую изменчивость, повышая тем самым разрешающую способность и точность анализа, могут применяться на любых стадиях развития растений, начиная с семян (Korir et al., 2012).

ДНК-маркеры для определения сортовой принадлежности должны быть высокополиморфными, удобными для практического использования, воспроизводимыми по результатам и наследуемыми в поколениях (Schulman, 2007; Khlestkina, 2013). Этим требованиям в полной мере отвечают микросателлиты, или SSR-маркеры (simple sequence repeat) – простые, повторяющиеся последовательности ДНК, полиморфизм которых основан на варьировании длины повтора, что в свою очередь обусловлено различиями в числе единиц повтора (Tautz, Renz, 1984; Khlestkina, 2011). Микросателлиты характеризуются высоким полиморфизмом, кодоминантным типом наследования, информативностью и воспроизводимостью результатов анализа (Khavkin, 2003; Ramazanova et al., 2008). Благодаря этим свойствам, они широко используются для оценки генетического разнообразия растений на межвидовом и внутривидовом уровне, для молекулярно-генетической характеристики генотипов природных популяций и образцов в составе мировых коллекций (Boronnikova, 2009; Karim et al., 2009; Liu et al., 2018).

Для клевера лугового исследований подобного рода с использованием SSR-маркеров на сегодняшний день известно немного. В частности, группой бразильских ученых на основе 14 микросателлитных локусов проведена оценка генетического разнообразия 58 образцов клевера из коллекции NPGS-USDA, объединяющей генплазму (сорта и популяции) наиболее важных сельскохозяйственных растений из 35 стран мира (Dias et al., 2008). Исследователи из Латвии использовали набор из 6 микросателлитных локусов для дифференциации 7 местных диплоидных сортов клевера лугового (Berzina et al., 2008). Ю. Дугарь и В. Попов с помощью SSR-маркеров выявляли ДНК-полиморфизм между сортами украинской селекции (Dugar, Popov, 2013). Исследовательские группы из Индии и Сербии на основе SSR-маркеров изучали генетическую изменчивость образцов клевера лугового из коллекций разных стран мира (Gupta et al., 2016; Radinovic et al., 2017). В России исследования по изучению ДНК-полиморфизма клевера лугового на основе SSR-маркеров для идентификации и генетической паспортизации селекционных достижений только начинают появляться (Klimenko, Kozlov, 2018; Klimenko et al., 2019).

При несомненных достоинствах микросателлитов с их использованием не всегда удается обнаружить внутрисортовую и межсортовую гетерогенность изучаемого материала, поскольку одна пара праймеров для фланкирующих областей в ПЦР позволяет рассматривать полиморфизм только одного локуса. Возникают сложности при изучении вариабельности последовательностей, которые в геноме растений не являются кодирующими, но обладают высокой степенью полиморфизма. Некоторые исследователи предлагают в таких случаях использовать новый тип маркеров на основе фрагментов амплификации геномной ДНК между близко расположенными последовательностями ретротранспозонов (Kumar, Bennetzen, 1999; Gao et al., 2012). Ретротранспозоны равномерно распределены по всему геному и не объединены в тандемные повторы, что делает их более удобными для генотипирования. Впервые семейство ретротранспозонов, получившее название R173, описано у ржи и включает около 15 тысяч копий на диплоидный геном (Rogowsky et al., 1992). Позднее было установлено, что умеренно повторяющиеся последовательности из семейства R173 в большом количестве имеются у других видов растений. Для исследования этих участков генома создана система PawS-маркеров, которая в последние годы успешно применяется при изучении ДНК-полиморфизма видов и сортов многих хозяйственно ценных растений, в том числе пшеницы, ячменя, картофеля, риса, свеклы и др. (Zaytsev, Khavkin, 2001; Brik et al., 2006; Glazko et al., 2012; Fedulova, Fedorin, 2014). Эта техника считается достаточно воспроизводимой, так как PawS-маркеры имеют относительно большой размер (18 и более пар нуклеотидов), а праймеры для их амплификации – высокую температуру отжига (в пределах +40...+55°C), и позволяет различать близкородственные сорта, а также сорта-двойники (Kumar, 2001; Tam et al., 2005). В доступных источниках литературы нет сведений об использовании этого типа маркеров для молекулярно-генетического анализа клевера лугового. На сегодняшний день не разработана универсальная технология генотипирования с учетом особенностей этой важной кормовой культуры, не определен оптимальный набор ДНК-маркеров для выявления сортоспецифичных характеристик селекционного материала.

В связи с этим, *цель настоящих исследований* состояла в оценке эффективности систем маркирования на основе SSR-локусов и PawS-маркеров для изучения ДНК-полиморфизма отечественных сортов клевера лугового и возможности определения ДНК-маркеров для идентификации и генетической паспортизации.

Материалы и методы

Растительный материал и выделение ДНК

Семена сортов для молекулярно-генетического анализа получены из коллекции генофонда кормовых культур ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса». Выборка включала сорта клевера лугового разного уровня плоидности, наиболее востребованные для посевов в Центральном и Северо-Западном регионах РФ (табл. 1).

Геномную ДНК выделяли с использованием модифицированного SDS-метода (Dellaporta et al., 1983) из 7-дневных проростков семян, по 30 штук от каждого сорта. Качество и количественный выход ДНК проверяли методом электрофореза в 1,5% агарозном геле и измерением концентрации на спектрофотометре Nabi (MicroDigital, Корея).

Таблица 1. Перечень сортов клевера лугового (*Trifolium pratense* L.), используемых для оценки ДНК-полиморфизма

Table 1. Red clover (*Trifolium pratense* L.) cultivars for DNA-polymorphism evaluation

Номер образца / Accession No.	Название сорта / Cultivar name	Дата внесения в Госреестр, происхождение / Date of listing in the State Register, originator	Уровень плоидности / Ploidy level
1	Ранний 2	1995 г., ФНЦ «ВИК им В.Р. Вильямса»	2*n*
2	Марс	1993 г., ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса» совместно с Институтом селекции кормовых культур (Мальхов, Германия)	4*n*
3	ВИК 77	2006 г., ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса»	2*n*
4	Топаз	2000 г., ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса»	2*n*
5	Трифон	2014 г., НИИСХ Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого	2*n*
6	Трио	1995 г., ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса» совместно с НИИСХ Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого	2*n*
7	Метеор	2007 г., ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса» совместно с СибНИИ кормов	4*n*

SSR-анализ

Для ДНК-типирования использовали маркеры, разработанные для клевера лугового на основе экспрессирующихся последовательностей (Expressed Sequence Tag, EST) (Sato et al., 2005) и представленные в базе данных Red Clover Marker Database (Kazusa, Japan). Реакционная смесь для ПЦР объемом 20 мкл содержала: 2 мкл 10× Tag Turbo буфера; 0,5 мкл раствора дезоксинуклеотидов (50× раствора по 10 мМ каждого); 0,2 мкл Taq ДНК-полимеразы (5 ед/мкл); 1 мкл каждого праймера (5 мМ); 20 нг/мкл геномной ДНК исследуемого объекта.

Амплификация выполнялась в термоциклере Bio-Rad iCycler (США) по программе Touch-down ПЦР (Don et al., 1991) с некоторыми модификациями и состояла из предварительной денатурации при 94°C в течение 3 мин и последующих чередований температурно-временных параметров со снижающейся на 2°C температурой отжига праймеров через каждые 3 цикла: 94°C – 30 с, 68°C – 30 с (3 цикла); 94°C – 30 с, 66°C – 30 с (3 цикла); 94°C – 30 с, 64°C – 30 с (3 цикла). В следующие циклы программы был включен дополнительный этап элонгации цепи: 94°C – 30 с, 62°C – 30 с и 72°C – 30 с (3 цикла); 94°C – 30 с, 60°C – 30 с и 72°C – 30 с (3 цикла); 94°C – 30 с, 58°C – 30 с и 72°C – 30 с (3 цикла). Затем температура гибридизации праймеров снижалась до 55°C и сохранялась на этом значении оставшиеся 30 циклов реакции: 94°C – 30 с, 55°C – 30 с и 72°C – 30 с. Заключительный этап элонгации цепи проходил при 72°C в течение 10 мин.

Продукты амплификации разделяли путем электрофореза (предварительное тестирование – в 1,6-процентном геле с использованием агарозы типа LE2 (Lonza, США) в 0,5× TAE буфере в присутствии бромистого этидия; с информативными маркерами – в 4-процентном геле на основе высокоразрешающей агарозы MetaPhor[R] Agarose (США). В качестве маркеров-стандартов использовали 20 bp DNA Ladder (Takara BIO Inc., Japan) и 50+bp DNA Ladder («Евроген», Россия). Результаты документировали с помощью системы microDOC (Cleaver Scientific, UK), воспроизводимость проверяли проведением экспериментов в 2–3-кратной повторности. Верификация результатов SSR-анализа осуществлялась путем выборочного клонирования ПЦР-продуктов в pAL2-T вектор и секвенирования на автоматическом анализаторе («Евроген», Россия).

ПЦР-анализ на основе PawS-маркеров

PawS-маркеры из семейства ретротранспозонов (Rogowsky et al., 1992; Biryukova, 2006) использовали для ДНК-типирования по одному на реакцию и в парных комбинациях. Условия ПЦР с одиночными праймерами соответствовали предложенным P. M. Rogowsky et al. (1992). При использовании парных комбинаций температуру отжига подбирали, ориентируясь на праймер с более низкими значениями этого показателя (табл. 3).

Детектировали фрагменты амплифицированной ДНК с помощью электрофореза в 1,6-процентном геле на основе агарозы типа LE2. Для определения размера продуктов амплификации применяли стандарт молекулярного веса 100 bp+1,5 kb DNA Ladder (ООО «СибЭнзим», Россия).

Анализ данных

Полученные данные анализировали при помощи пакета программ GelAnalyzer 2010a (Lazar et al., 2010). Показатели генетического разнообразия рассчитывали с помощью программы Microsatellite toolkit (MStools v.3) (Park, 2001). Уровень полиморфизма микросателлитных локусов определяли по соотношению числа полиморфных ампликонов к общему количеству полученных фрагментов амплификации. Расчет генетических расстояний и кластеризацию экспериментального материала выполняли методом невзвешенного парно-группового кластерного анализа с арифметическим усреднением (UPGMA) (Sokal, Michener, 1958) с использованием программы Statistica 7.0. В процессе работы пользовались информацией по SSR-маркерам из международной базы данных Red Clover Marker Database (Kazusa, Japan).

Результаты и обсуждение

Большинство сортов клевера лугового, относящегося к перекрестноопыляемым культурам, состоит из гетерогенных биотипов с высоким уровнем вариабельности. Для предварительной оценки межсортовых различий и достоверной статистической обработки такого материала необходима достаточно большая выборка – объемом 30–50 семян от сорта. Однако на практике масштабное генотипирование требует значительных затрат труда, времени и финансовых средств. Эффективным подходом в этом случае является применение «балк-анализа» (bulk analysis) – метода, при котором для изучения генетического разнообразия используется общая навеска растительной ткани из отдельных образцов в составе большого пула (Kölliker et al., 2001; Herrmann et al., 2005). В базовый SDS-метод, использованный для ДНК-экстракции, были внесены некоторые изменения. В частности, лизирующий буфер готовили из расчета на индивидуальный вес 30 проростков от каждого сорта, уменьшали количество РНКазы за счет большей продолжительности времени инкубации образца с ферментом в термостате, не использовали токсичный фенол в процедурах по осаждению и очистке. В результате на основе модифицированного SDS-метода были получены ДНК-пробы хорошего качества для ПЦР-анализа.

На текущий момент, к сожалению, нет единого мнения о приемлемости использования «балк-образцов» при оценке филогенетических отношений между популяциями и сортами. Некоторые исследователи считают, что при таком подходе часть редких аллелей, присущих индивидуальным генотипам в составе суммарной ДНК-пробы, неизбежно выпадает из анализа и статистической обработки (Gilbert et al., 1999; Kölliker et al., 2001), и полученные результаты не будут отражать весь спектр генетического разнообразия исследуемого материала. По мнению других авторов (Michelmore et al., 1991), общая ДНК-проба должна аккумулировать в себе специфические маркеры, характерные для всей популяции или сорта, и может успешно применяться при изучении генетической изменчивости. Для получения большего объема информации мы провели предварительный анализ внутрисортовой изменчивости на трех сортах (‘Марс’, ‘Ранний 2’ и ‘Трифон’), используя в ПЦР образцы ДНК, выделенные из отдельных проростков каждого сорта (по 10 генотипов). По результатам нашей работы не выявлено существенного внутрисортового ДНК-полиморфизма при использовании 5 SSR-маркеров. Незначительные различия в размере фрагментов ДНК обнаружены в сортах ‘Марс’ и ‘Ранний 2’ при амплификации с праймером RCS1307, а также между генотипами сорта ‘Трифон’ с праймером RCS4280 (диапазон размеров, полученных ампликонов – 111–114 пн) (рис. 1). Эти данные позволяют прийти к заключению о выравненности генотипов в составе анализируемых сортов и обоснованности использования «балк-стратегии» в настоящем исследовании. В источниках литературы и ранее встречались сведения о невысоком уровне генетической изменчивости клевера лугового, выявленном с использованием разных типов молекулярных маркеров (Kongkiatngam et al., 1995; Kölliker et al., 2003). Однако большинство исследователей отмечают значительную вариабельность, причем более высокую внутри сортов и популяций, чем на межпопуляционном уровне (Dias et al., 2008; Gupta et al., 2016).

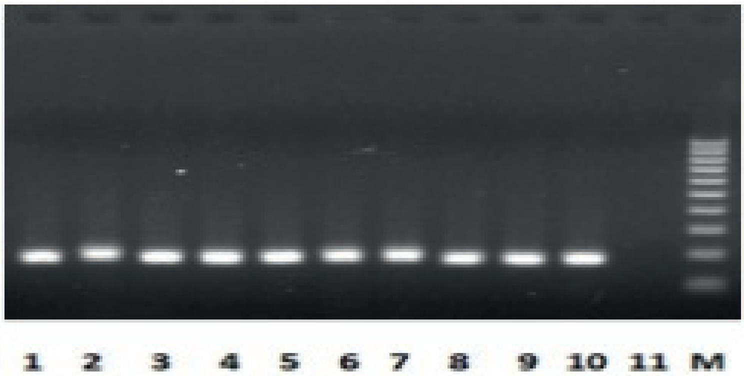


Рис. 1. Продукты амплификации с праймером RCS1307 генотипов сорта клевера лугового Трифон (анализ внутрисортового ДНК-полиморфизма):
1–10 – индивидуальные генотипы; М – маркер молекулярной массы; 11 – контроль (H_2O); (LE2 агарозный гель)

Fig. 1. Amplification products with the primer RCS1307 in individual genotypes of the red clover cultivar Trifon (intravarietal DNA polymorphism analysis):
1–10 – individual genotypes; M – molecular weight marker; 11 – control (H_2O); (LE2 agarose gel)

При ПЦР-анализе балк-образцов ДНК изучаемых сортов с большей частью праймеров получены фрагменты аплифицированной ДНК, в общей сложности – 119, в среднем – по 16 на сорт и 14 на комбинацию праймеров. Размер ампликонов варьировал в диапазоне от 110 до 300 пар нуклеотидов. Полиморфных фрагментов выявлено 46, рассчитанный средний уровень межсортового полиморфизма составил 38,6%, что свидетельствует о невысокой генетической изменчивости в пределах изучаемой выборки. Для статистической обработки отбирали наиболее отчетливые и воспроизводимые ампликоны. Показатели, характеризующие генетическое разнообразие изучаемого материала, представлены в таблице 2.

Таблица 2. Характеристика микросателлитных (SSR) локусов, использованных для анализа сортов клевера лугового

Table 2. Characteristics of the microsatellite (SSR) loci used for the analysis of red clover cultivars

Маркер / Marker	Группа сцепления / Linkage group	Мотив / Motif	Число аллелей / Allele number	Размер фрагментов (пн) / Fragment size (bp)	Частота встречаемости аллеля / Allele frequency	He	PIC
RCS4280	LG1	$(GGA)_{18}$	5	111–124	0,4	0,73	0,62
RCS3186	LG2	$(AAAT)_{12}$	5	248–257	0,3	0,83	0,74
RCS3095	LG2	$(AAAT)_{28}$	9	207–224	0,2	0,92	0,84
RCS2183	LG3	$(AGC)_{18}$	5	174–183	0,4	0,79	0,70
RCS1307	LG4	$(GGGA)_{22}$	4	140–159	0,4	0,75	0,64
RCS0131	LG5	$(AAC)_{16}$	5	213–217	0,3	0,84	0,74
RCS3711	LG6	$(AAG)_{18}$	5	147–153	0,3	0,84	0,74
RCS1640	LG7	$(GGGA)_{22}$	7	120–144	0,2	0,90	0,82
RCS0033	LG3	$(AAT)_{39}$	1	182	0,1	0,0	0,0

Примечание: PIC – polymorphism information content (индекс информативности маркера);
He – expected heterozygosities (ожидаемая гетерозиготность), пн – bp (пары нуклеотидов)

В среднем на локус получено 5 аллелей, что существенно ниже, чем в работах других авторов, выявлявших в популяциях клевера лугового в среднем до 9 аллелей на локус (Dias et al., 2008; Dugar, Popov, 2013). Индекс информативности (PIC), отражающий способность специфического маркера обнаруживать полиморфизм в изучаемых образцах (Gilbert et al., 1999), был довольно высоким для используемого набора (от 0,62 до 0,84), за исключением RCS0033. Значения этого показателя в среднем соответствовали диапазону, определенному в работах других исследователей. Так, Sato et al. (2005) показали, что уровень PIC для тех же локусов на картируемых популяциях клевера лугового менялся от 0,54 до 0,83 со средним значением 0,60; в работе Dias et al. (2008) – 0,64–0,85. Чешские исследователи (Vymyslicky et al., 2012) при оценке образцов из коллекции клевера лугового определили, что значения индекса информативности для 11 SSR-маркеров составляли 0,40–0,86.

Маркеры RCS3095 и RCS1307 оказались наиболее информативными для выявления ДНК-полиморфизма между анализируемыми сортами. Получены уникальные фрагменты амплификации для сортов ‘Трио’ (207 пн) и ‘Марс’ (212 и 224 пн) с маркером RCS3095, а также для сортов ‘Трифон’ (158 пн) и ‘Топаз’ (151 пн) с RCS1307. Для подтверждения результатов SSR-анализа и определения точного размера целевого фрагмента проведено выборочное клонирование ПЦР-продуктов в pAL2-T вектор и секвенирование (рис. 2).

Сопоставимость отсеквенированных последовательностей с имеющимися в базе данных валидизирует ре-

Рис. 2. Сравнительный анализ последовательностей нуклеотидов SSR-маркера RCS1307 (сорта Трифон, Топаз) и последовательностей этого маркера из базы данных *Red Clover Marker Database*

Fig. 2. Comparison among the studied SSR sequences of the SSR marker RSC1307 (cvs. Trifon and Topaz) and sequences from the *Red Clover Marker Database*

зультаты анализа и позволяет заключить, что SSR-маркеры RCS3095 и RCS1307 можно использовать в качестве идентификационных для ряда отечественных сортов клевера лугового.

На основе результатов микросателлитного анализа была составлена матрица бинарных признаков, в которой наличие или отсутствие в электрофоретических профилях одинаковых по размеру ампликонов рассматривалось как состояние 1 и 0 соответственно. Проведена кластеризация и построена дендрограмма генетической гетерогенности исследуемых сортов (UPGMA, Statistica 7.0), согласно которой они группируются по трем кластерам (рис. 3). Наибольшим генетическим сходством обладают сорта ‘Трифон’ и ‘Трио’, а также ‘Ранний 2’ и ‘ВИК 77’. Генетическая дистанция в первом случае равна 2,42, во втором – 3,0. В отдельную ветвь выделились тетраплоидные сорта ‘Метеор’ и ‘Марс’ с самыми дальними дистанциями – 3,42 и 3,62 соответственно, что указывает на их генетическую обособленность в анализируемом материале. Сорт ‘Топаз’ имеет большее генетическое сходство с сортами ‘Трио’ и ‘Трифон’, чем с остальными сортами из выборки; генетическая дистанция – 2,88.

Кластерный анализ выявил определенную зависимость генетических особенностей изучаемых сортов от уровня плоидности или происхождения: у сортов ‘Трифон’ и ‘Трио’ – общий оригинатор (НИИСХ Северо-Востока, г. Киров), а сорта ‘Марс’ и ‘Метеор’ – тетраплоиды. Однако на данном этапе можно вынести лишь предварительное суждение по генетической гетерогенности исследуемого материала – более точная характеристика не может быть представлена вследствие ограниченного набора испытанных SSR-маркеров.

В ходе исследований попытались изучить возможности группы ДНК-маркеров на основе умеренно повторяющихся последовательностей из семейства R173 для выявления ДНК-полиморфизма между сортами клевера лугового. Разработанные к этим участкам генома праймеры использовали по одному на реакцию и в парных комбинациях (см. табл. 3). С одиночными PawS-праймерами не получили продуктов амплификации.

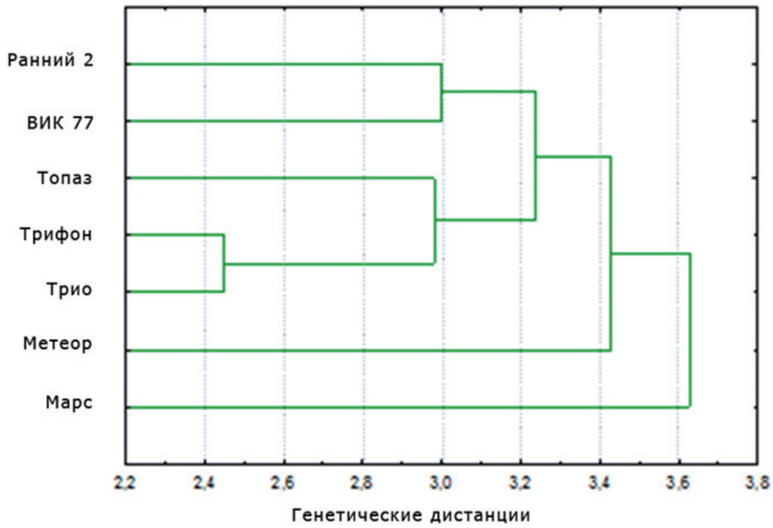


Рис. 3. Дендрограмма кластеризации сортов клевера лугового, построенная на основе микросателлитного анализа (UPGMA, Statistica 7.0)

Fig. 3. The dendrogram of red clover cultivars based on microsatellite analysis (UPGMA, Statistica 7.0)

Таблица 3. PawS-маркеры, используемые для анализа сортов клевера лугового

Table 3. PawS markers used for the analysis of red clover cultivars

Праймер / температура отжига Primer / annealing temperature	Последовательность нуклеотидов / Sequence	Комбинации праймеров / Primer pairs	Сорт, ампликоны (пн) / Cultivar, amplicons (bp)
PawS16 / 55°C	AACGAGGGGTTCGAGGCC	–	–
PawS6 / 45°C	GAGTGTCAAACCCAACGA	PawS6+PawS5 PawS6+PawS11	– –
PawS11 / 36°C	GAATTCTTGGAAAATGTA	PawS11+PawS5 PawS11+PawS6	– –
PawS5 / 56°C	ACCTCTGCGCTTGGAGGC	PawS5+PawS16	Ранний 2: 479; 377; 357; 283 Марс: 479; 283; 350 ВИК 77: 283; 350; 485 Топаз: 226; 293; 350 Трифон: 357; 485 Трио: 485 Метеор: 479

Использование PawS6, PawS11 и PawS16 в сочетаниях также не привело к положительным результатам.

Эффективность PawS5 проверили во всех возможных комбинациях, так как ряд исследователей сообщают о его высокой активности как ретроэлемента, с помощью которого можно надежно дифференцировать сорта различных видов сельскохозяйственных культур (Glazko et al., 2012; Fedulova, Fedorin, 2014; Bezlepkina et al, 2019). Однако лишь с использованием комбинации PawS5+ PawS16 удалось получить воспроизводимые ПЦР-продукты для анализируемых сортов – в общей сложности 20 ампликонов. При этом сортоспецифичных фрагментов амплификации не выявлено (рис. 4).

исхождения сортового материала. Исследования следует продолжить с расширенным набором праймеров для анализа или использовать более информативную систему маркирования.

Методика на основе PawS-маркеров проста в исполнении и доступна по стоимости, но неэффективна для оценки генетической изменчивости в сортах клевера лугового. С использованием одиночных праймеров, разработанных для анализа полиморфизма умеренных повторов, а также их комбинаций, продуктов амплификации не получено, за исключением PawS5 (в комбинации с PawS16), что, вероятно, обусловлено его высокой активностью.

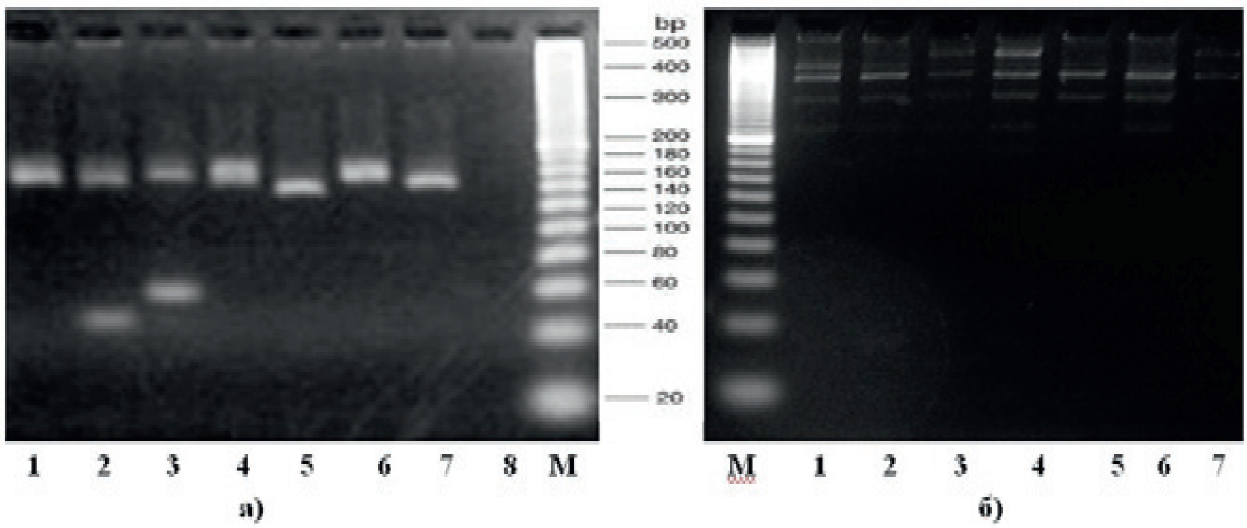


Рис. 4. Электрофореграммы продуктов амплификации с различными типами праймеров:
а) с праймером RCS1307. М – маркер молекулярной массы; 1 – 7 сорта: Марс, Ранний 2, Метеор, Топаз, Трифон, Трио, ВИК77; 8 – отрицательный контроль;
б) с комбинацией PawS5+PawS16. М – маркер молекулярной массы; 1 – 7 сорта: Ранний 2, Марс, ВИК 77, Топаз, Трифон, Трио, Метеор

Fig. 4. Electrophoregrams of PCR products with different types of primers:
a) primer RCS1307. M – marker fragment length standard**;**
1 – 7 cultivars: Mars, Ranniy 2, Meteor, Topaz, Trifon, Trio, VIK 77; 8 – negative control;
b) combination PawS5+PawS16. M – marker fragment length standard; 1 – 7 cultivars: Ranniy 2, Mars, VIK77, Topaz, Trifon, Trio, Meteor

Заключение

Таким образом, проведенные исследования показали, что система SSR-маркирования является достаточно удобной и относительно недорогой техникой при использовании уже разработанных маркеров из доступных баз данных и вполне приемлема для анализа кормовых культур. Существенно снизить трудоемкость, временные затраты и стоимость работ по изучению межсортового ДНК-полиморфизма позволяет применение «балк-стратегии» при формировании выборки генотипов от сорта для выделения ДНК.

SSR-маркеры RCS1307 и RCS3095 выявляют уникальные аллели в сортах российской селекции ‘Трио’, ‘Марс’, ‘Трифон’, ‘Топаз’ и могут использоваться для их идентификации и генетической паспортизации.

В целом для всей выборки выявлен невысокий уровень ДНК-полиморфизма (38,6%). Одной из причин может быть высокая степень гомологии в исследуемых участках генома вследствие близкородственного про-

Полученные данные могут быть использованы при разработке универсальной технологии генотипирования для клевера лугового с целью идентификации и генетической паспортизации существующих и вновь создаваемых сортов.

Работа выполнена в рамках проекта Министерства науки и высшего образования № 0442-2019-0001 по теме «Разработка адаптированных методов молекулярно-генетического анализа культурных видов и форм кормовых растений для интенсификации селекционного процесса».

The research was performed within the framework of the Project No. 0442-2019-0001 “Development of adapted methods for molecular genetic analysis of cultivated forage crop species and forms aimed breeding process intensification”, funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

References/Литература

Berzina I., Zhuk A., Veinberga I., Rasha I., Rungis D.D. Genetic fingerprinting of Latvian red clover (*Trifolium pratense* L.) varieties using simple sequence repeat (SSR) markers: comparisons over time and space. *Latvian Journal of Agronomy*. 2008;11:28-32.

Bezlepkina E.V., Guliaeva A.A., Galkova A.A. The PawS5 retrotransposon based genotyping of apricot (*Prunus armenica* L.) varieties from collection of the Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding (VNIISPK) *Contemporary Horticulture*. 2019;3:9-15. [in Russian] (Безлепкина Е.В., Гуляева А.А., Галькова А.А. Применение ретротранспозона PawS5 в качестве ДНК-маркера при генотипировании сортообразцов абрикоса обыкновенного (*Prunus armenica* L.) из коллекции ВНИИСПК. *Современное садоводство*. 2019;3:9-15). DOI: 10.24411/2312-6701-2019-10302

Biryukova V.A. Assessment of the genetic diversity of potato varieties and related *Solanum* species by analyzing moderately repetitive genome sequences (Otsenka geneticheskogo raznoobraziya sortov kartofelya i rodstvennykh vidov *Solanum* metodom analiza umerenno povtoryayushchikhsya posledovatelnostey genoma) [dissertation]. Moscow; 2002. [in Russian] (Бирюкова В.А. Оценка генетического разнообразия сортов картофеля и родственных видов *Solanum* методом анализа умеренно повторяющихся последовательностей генома: дис. … канд. биол. наук. Москва; 2006).

Boronnikova S.V. Molecular marking and genetic certification resource and rare species of plants for the purpose of optimization of preservation of their genofunds. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2009;2(56):57-59. [in Russian] (Боронникова С.В. Молекулярное маркирование и генетическая паспортизация ресурсных и редких видов растений с целью оптимизации сохранения их генофондов. *Аграрный вестник Урала*. 2009;2(56):57-59).

Brik A.F., Kalendar R.N., Stratula O.P, Sivolap Yu.M. IRAP and REMAP analysis barley varieties from Odessa collection (IRAP- i REMAP-analiz sortov yachmenya Odesskoy selektsii). *Cytology and Genetics*. 2006;3:24-33. [in Russian] (Брик А.Ф., Календарь Р.Н., Стратула О.Р., Сиволап Ю.М. IRAP- и REMAP-анализ сортов ячменя Одесской селекции. *Цитология и генетика*. 2006;3:24-33).

Dellaporta S.L., Wood J., Hicks J.B. A plant DNA minipreparation: Version II. *Plant Molecular Biology Reporter*. 1983;1(4):19-21. DOI: 10.1007/BF02712670

Dias P.M.B., Julier B., Sampoux J.P., Barre P., Dall'Agnol M. Genetic diversity in red clover (*Trifolium pratense* L.) revealed by morphological and microsatellite (SSR) markers. *Euphytica*. 2008;160(2):189-205. DOI: 10.1007/s10681-007-9534-z

Don R.H., Cox P.T., Wainwright B.J., Baker K., Mattick J.S. 'Touchdown' PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucleic Acids Research*. 1991;19(14):4008. DOI: 10.1093/nar/19.14.4008

Dugar Y.N., Popov V.N. Genetic structure and diversity of Ukrainian red clover cultivars revealed by microsatellite markers. *Open Journal of Genetics*. 2013;3:235-242. DOI: 10.4236/ojgen.2013.34026

Fedulova T.P. Fedorin D.N. Genetic diversity analysis sort type root beet (*Beta vulgaris* L.) based on DNA-marker. *Auditorium: Electronic Scientific Journal of Kursk State University*. 2014;4(4). [in Russian] (Федулова Т.П., Федорин Д.Н. Анализ генетического разнообразия сортотипов корнеплодной свеклы (*Beta vulgaris* L.) на основе ДНК-маркеров. *Auditorium электронный научный журнал Курского государственного университета*. 2014;4(4)). URL: https://cyberleninka.ru/article/n/analiz-geneticheskogo-raznoobraziya-sortotipov-korneplodnoy-svekly-beta-vulgaris-l-na-osnove-dnk-markerov [дата обращения: 10.06.2020].

Gao D., Chen J., Chen M., Meyers B.C., Jackson S. A highly conserved, small LTR retrotransposon that preferentially targets genes in grass genomes. *PLoS ONE*. 2012;7(2):e32010. DOI: 10.1371/journal.pone.0032010

Gilbert J.E., Lewis R.V., Wilkinson M.J., Caligari P.D.S. Developing an appropriate strategy to assess genetic variability in plant germplasm collections. *Theoretical and Applied Genetics*. 1999;98(6-7):1125-1131. DOI: 10.1007/s001220051176

Glazko V.I., El'kina M.A., Glazko T.T. Homologous nucleotide sequences of the flank of retrotranspozon PawS5 of R173 family in animal and plant genomes. *Agricultural Biology*. 2012;4:36-41. [in Russian] (Глазко В.И., Елькина М.А., Глазко Т.Т. Гомологичные нуклеотидные последовательности фланга ретротранспозона PawS5 из семейства R173 в геномах животных и растений. *Сельскохозяйственная биология*. 2012;4:36-41). DOI: 10.15389/agrobiology.2012.4.36rus

Gupta M., Sharma V., Singh S.K., Chahota R.K., Sharma T.R. Analysis of genetic diversity and structure in a genebank collection of red clover (*Trifolium pratense* L.) using SSR markers. *Plant Genetic Resources*. 2016;15(4):376-379. DOI: 10.1017/S1479262116000034

Herrmann D., Boller B., Widmer F., Kölliker R. Optimization of bulked AFLP analysis and its application for exploring diversity of natural and cultivated populations of red clover. *Genome*. 2005;48(3):474-486. DOI: 10.1139/g05-011

Karim K., Rawda A., Hatem C.M. Genetic diversity in local Tunisian barley based on RAPD and SSR analysis. *Biological Diversity and Conservation*. 2009;2(1):27-35.

Khavkin E.E. Plant molecular breeding: DNA technologies of creating new crop varieties. *Agricultural Biology*. 2003;38(3):26-41. [in Russian] (Хавкин Э.Е. Молекулярная селекция растений: ДНК-технологии создания новых сортов сельскохозяйственных культур. *Сельскохозяйственная биология*. 2003;38(3):26-41).

Khlestkina E.K. Molecular markers in genetic studies and breeding. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2013;17(4/2):1044-1054. [in Russian] (Хлесткина Е.К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2013;17(4/2):1044-1054).

Khlestkina E.K. Molecular methods of the analysis of the structural and functional organization of genes and genomes in higher plants. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2011;15(4):757-768. [in Russian] (Хлесткина Е.К. Молекулярные методы анализа структурно-функциональной организации генов и геномов высших растений. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2011;15(4):757-768).

Klimenko I.A., Kozlov N.N. Assessment of red clover breeding samples on the base of microsatellite analysis. In: *Multifunctional adaptive fodder production: Collection of scientific papers. Issue 19(67).* (*Mnogofunktsionalnoye adaptivnoye kormoproizvodstvo: sbornik nauchnykh trudov. Vypusk 19(67)*). Moscow; 2018. [in Russian] (Клименко И.А., Козлов Н.Н. Оценка сортообразцов клевера лугового на основе микросателлитного анализа. В кн.: *Многофункциональное адаптивное кормо-*

производство: сборник научных трудов. Выпуск 19(67). Москва; 2018).

Klimenko I.A., Shamustakimova A.O., Kapustina N.V., Makarenkov M.A. Microsatellite genotyping of red clover and alfalfa varieties of the Williams Forage Crops Research Institute breeding (Mikrosatellitnoye genotipirovaniye sortov klevera lugovogo i lutserny VNII kormov im. V.R. Vilyamsa). *Aktualnaya biotekhnologiya = Actual Biotechnology*. 2019;3(30):180-182. [in Russian] (Клименко И.А., Шамустакимова А.О., Капустина Н.В., Макаренков М.А. Микросателлитное генотипирование сортов клевера лугового и люцерны селекции ВНИИ кормов им. В.Р. Вильямса. *Актуальная биотехнология*. 2019;3(30):180-182).

Kölliker R., Hermann D., Boller B., Widmer F. Swiss Mattenklee landraces, a distinct and diverse genetic resource of red clover (*Trifolium pratense* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2003;107:306-315.

Kölliker R., Jones E.S., Jahufer M.Z.Z., Forster J.W. Bulked AFLP analysis for the assessment of genetic diversity in white clover *(Trifolium repens* L.). *Euphytica*. 2001;121:305-315.

Kongkiatngam P., Waterway M.J., Fortin M.G., Coulman B.E. Genetic variation within and between two cultivars of red clover (*Trifolium pratense* L.): comparisons of morphological, isozyme, and RAPD markers. *Euphytica*. 1995:84:237-246. DOI: 10.1007/BF01681816

Korir N.K., Han J., Shangguan L., Wang C., Kayesh E., Zhang Y. et al. Plant variety and cultivar identification: advances and prospects. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2012;33(2):111-125. DOI: 10.3109/07388551.2012.675314

Kumar A., Bennetzen J.L. Plant retrotransposons. *Annual Review of Genetics*. 1999;33:479-532.

Kumar A., Hirochika H. Application of retrotransposons as genetic tools in plant biology. *Trends in Plant Science*. 2001;6(3):127-134. DOI: 10.1016/S1360-1385(00)01860-4

Lazar I., Zwecker-Lazar I., Lazar R.H. GelAnalyzer 2010a: Freeware 1D gel electrophoresis image analysis software. ScienceOpen, Inc.; 2010.

Liu S., Feuerstein U., Luesink W., Schulze S., Asp T., Studer B. et al. DArT, SNP, and SSR analyses of genetic diversity in *Lolium perenne* L. using bulk sampling. *BMC Genetics*. 2018;19(1):10. DOI: 10.1186/s12863-017-0589-0

Michelmore R.W., Paran I., Kesseli R.V. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *PNAS*. 1991,88(21):9828-9832. DOI: 10.1073/pnas.88.21.9828

Novoselov M.Y. Red clover (*Trifolium pratense* L.) (Klever lugovoy [*Trifolium pratense* L.]). In: *The basic species and varieties of fodder crops* (*Osnovnye vidy i sorta kormovykh kultur*). Moscow: Nauka; 2015. p.26-30. [in Russian] (Новоселов М.Ю. Клевер луговой (*Trifolium pratense* L.). В кн.: *Основные виды и сорта кормовых культур*. Москва: Наука; 2015. С.26-30).

Park S. MStools v. 3 (Excel Spreadsheet Toolkit for Data Conversion). Dublin: Trinity College; 2001.

Radinovic I., Vasiljevic S., Brankovic G., Salem-Ahsyee R., Momirovic U., Perovic D. et al. Molecular characterization of red clover genotypes utilizing microsatellite markers. *Chilean Journal of Agricultural Research*. 2017;77(1):41-47. DOI: 10.4067/S0718-58392017000100005

Ramazanova S.A., Guchetl C.Z., Chelyustnikova T.A., Antonova T.S. Identification of soybean cultivars of Russian breeding on the basis of DNA SSR-loci analysis. *Oil Crops. Scientific and Technical Bulletin of VNIIMK*. 2008;2(139):56-58. [in Russian] (Рамазанова С.А., Гучетль С.З., Челюстникова Т.А., Антонова Т.С. Идентификация сортов сои российской селекции на основе анализа микросателлитных (SSR) локусов ДНК. *Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур*. 2008;2(139):56-58).

Rogowsky P.M., Shepherd K.W., Langridge P. Polymerase chain reaction based mapping of rye involving repeated DNA sequences. *Genome*. 1992;35(4):621-626. DOI: 10.1139/g92-093

Sato S., Isobe S., Asamizu E., Ohmido N., Kataoka R., Nakamura Y. et al. Comprehensive structural analysis of the genome of red clover (*Trifolium pratense* L.). *DNA Research*. 2005;12(5):301-364. DOI: 10.1093/dnares/dsi018

Schulman A.H. Molecular markers to assess genetic diversity. *Euphytica*. 2007;158:313-321. DOI: 10.1007/s10681-006-9282-5

Sokal R.R., Michener C.D. A statistical methods for evaluating relationships. *University of Kansas Science Bulletin*. 1958;38:1409-1448.

Tam S.M., Mhiri C., Vogelaar A., Kerkveld M., Pearce S.R., Grandbastien M.A. Comparative analyses of genetic diversities within tomato and pepper collections detected by retrotransposon-based SSAP, AFLP and SSR. *Theoretical and Applied Genetics*. 2005;110(5):819–831. DOI: 10.1007/s00122-004-1837-z

Tautz D., Renz M. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Research*. 1984;12(10):4127-4138. DOI: 10.1093/nar/12.10.4127

Vymyslicky T., Smarda P., Pelikan J., Cholastova T., Nedelnik J., Moravcova H. et al. Evaluation of the Czech core collection of *Trifolium pratense*, including morphological, molecular and phytopathological data. *African Journal of Biotechnology*. 2012;11(15):3583-3595. DOI: 10.5897/AJB11.3085

Zaytsev V.S., Khavkin E.E. Identification of plant genotypes using PCR analysis of repeated DNA sequences R173 family. (Identifikatsiya genotipov rasteniy s pomoshchyu PTsR-analiza rasseyannykh povtoryayushchikhsya posledovatelnostey R173). *Russian Agricultural Sciences*. 2001;2:3-5. [in Russian] (Зайцев В.С., Хавкин Э.Е. Идентификация генотипов растений с помощью ПЦР-анализа рассеянных повторяющихся последовательностей R173. *Доклады РАСХН*. 2001;2:3-5).

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

Клименко И.А., Костенко С.И., Мавлютов Ю.М., Шамустакимова А.О. Эффективность SSR- и PawS-маркеров для оценки генетического полиморфизма сортов клевера лугового (*Trifolium pratense* L.). Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции.2020;181(3):100-109.DOI:10.30901/2227-8834-2020-3-100-109

Klimenko I.A., Kostenko S.I., Mavlyutov Yu.M., Shamustakimova A.O. Efficiency of SSR and PawS markers for evaluation of genetic polymorphism among red clover (*Trifolium pratense* L.) cultivars. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(3):100-109. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-100-109

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/10.30901/2227-8834-2020-3-100-109

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
Klimenko I.A. https://orcid.org/0000-0002-1850-3859
Kostenko S.I. https://orcid.org/0000-0001-9534-0603
Mavlyutov Yu.M. https://orcid.org/0000-0002-5695-6242
Shamustakimova A.O. https://orcid.org/0000-0003-3535-3108

Жизнеспособность пыльцы черной смородины до и после криоконсервирования в жидком азоте и особенности ее морфологии

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-110-119

УДК 634.723.1:581.41:631.527.825.3:57.086.13
Поступление/Received: 13.04.2020
Принято/Accepted: 21.09.2020

Viability of black currant pollen before and after cryopreservation in liquid nitrogen, and its morphological features

О. А. ТИХОНОВА [1]*, О. А. ГАВРИЛОВА [2], Е. А. РАДЧЕНКО [1], В. Г. ВЕРЖУК [1], А. В. ПАВЛОВ [1]

[1] Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44
✉ o.tikhonova@vir.nw.ru

[2] Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, 197376 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 2

O. A. TIKHONOVA [1]*, O. A. GAVRILOVA [2], E. A. RADCHENKO [1], V. G. VERZHUK [1], A. V. PAVLOV [1]

[1] N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia
✉ o.tikhonova@vir.nw.ru

[2] Komarov Botanical Institute of the RAS, 2 Professora Popova Street, St. Petersburg 197376, Russia

Актуальность. Исследование особенностей формирования и прорастания пыльцы является очень важным для оценки потенциальной продуктивности растений и эффективности селекционной работы. **Материалы и методы.** Объектами исследования служили 11 сортов черной смородины различного эколого-географического и генетического происхождения из генофонда, сохраняемого на научно-производственной базе «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР». Изучение жизнеспособности пыльцы до и после криоконсервирования проводили в лаборатории длительного хранения генофонда растений (ЛДХГР) ВИР путем проращивания ее на питательной среде, содержащей 10% сахарозы и 0,8% агар-агара. Морфологические исследования выполняли с помощью светового и конфокального лазерного сканирующего (КЛСМ) микроскопов в лаборатории палинологии и Центре коллективного пользования БИН РАН. **Результаты и заключение.** Сложившиеся неблагоприятные погодные условия в 2019 г. оказали негативное воздействие на процесс формирования мужской генеративной сферы – уровень жизнеспособности пыльцы в зависимости от сорта составил 17,98–58,60%. После экспозиции в жидком азоте (при –196°C) в течение шести месяцев у всех изученных сортов, за исключением одного ('Поздняя послевоенная', к-7652), наблюдалось увеличение процента проросших пыльцевых зерен в 1,1–3,2 раза. Изучение морфологических особенностей пыльцы позволило выявить, что пониженная жизнеспособность у ряда сортов ('Красноярская 1018', к-7607, 'Tsema', к-25900, 'Поздняя послевоенная', к-7652) связана с морфологическими отклонениями в строении спородермы, выраженными в разноразмерности пыльцевых зерен, утолщении экзины и формировании бородавчатых поверхностей мезопориума. Выявлена невысокая положительная взаимосвязь уровня жизнеспособности пыльцы с диаметром поры (r = 0,43) и диаметром пыльцевого зерна (r = 0,27) и несущественная отрицательная корреляция между уровнем жизнеспособности и толщиной экзины (r = –0,33).

Ключевые слова: *Ribes* L., сорт, апертура, экзина, спородерма, корреляция, криоконсервация.

Background. Learning about morphological and biological features of pollen is very important to make correct estimations of plant productivity and breeding efficiency**. Materials and methods.** The viability of black currant pollen was analyzed in 2019 at the Laboratory for Long-Term Storage of Plant Genetic Resources, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR). Eleven black currant cultivars of various ecogeographic and genetic origin maintained at Pushkin and Pavlovsk Laboratories of VIR served as the material for the research. Pollen viability was tested on an artificial medium with 10% sucrose and 0.8% agar. Morphological studies were carried out using light and confocal laser scanning microscopy at the Palynology Laboratory and the Core Centrum of Cell and Molecular Technologies in Plant Science housed by the Komarov Botanical Institute (BIN). **Results and conclusion.** The prevailing adverse weather conditions in 2019 produced a negative impact on the process of male generative structure formation. The level of pollen viability, depending on the cultivar, ranged from 17.98 to 58.60%. After exposure to liquid nitrogen (–196°C) for 6 months, the number of germinated pollen grains increased 1.1 to 3.2 times in all the studied cultivars, except one ('Pozdnyaya poslevoennaya', k-7652). A palynomorphological study revealed that reduced pollen viability in some cultivars ('Krasnoyarskaya 1018', k-7607; 'Tsema', k-25900; 'Pozdnyaya poslevoennaya', k-7652) was associated with morphological deviations in the sporoderm structure (small pollen grains, exine thickening and formation of verrucate mesoporium surfaces). A low positive correlation was observed between the level of pollen viability and the diameters of the pore (r = 0.43) and pollen grain (r = 0.27). An insignificant negative correlation was apparent between the level of viability and the exine thickness (r = –0.33).

Key words: *Ribes* L., cultivar, aperture, exine, sporoderm, correlation, cryopreservation.

Введение

Сохранение растительного биоразнообразия проводится в условиях *in situ* (в полях, лесах, садовых массивах) и *ex situ* (в коллекционных садах и питомниках). Одним из перспективных методов хранения *ex situ* вегетативно размножаемых плодовых и ягодных культур является криоконсервирование в условиях сверхнизких температур жидкого азота (–196°C) или его паров (–183°…–185°C), что позволяет сохранять жизнеспособность генофонда культурных плодовых и ягодных растений в течение нескольких десятков лет; при этом растительный материал (побеги, отделенные от побегов почки, меристемы, семена диких видов, пыльца), подвергаемый воздействию сверхнизких температур, не изменяется, а остается генетически стабильным (Kiseleva et al., 2012).

Криоконсервирование пыльцы плодовых культур не только важно для сохранения генетических ресурсов, но и может служить необходимым материалом для целей селекции, а возможность быстрого определения жизнеспособности пыльцы на искусственных средах после длительного хранения представляет несомненный практический интерес для селекционеров и биологов (Golubinsky, 1974; Zamburova et al., 2016; Sitnikov et al., 2018).

Для плодовых культур фертильность и жизнеспособность пыльцы являются особо значимыми показателями, поскольку они напрямую связаны с продуктивностью растений. Кроме того, от качества пыльцы во многом зависит и эффективность селекционной работы (Gavrilova, Tikhonova, 2017).

Исследованиями ряда авторов (Nikolaevskaya et al., 2009; Koteyeva et al., 2015) показано, что качество мужского гаметофита не только зависит от генотипа, но и довольно тесно связано с колебаниями погодно-климатических характеристик (температуры, влажности воздуха) в регионе произрастания культуры. Развитие пыльцевых зерен считается одним из онтогенетических процессов, наиболее чувствительных к изменениям температур (Koteyeva et al., 2015). При аномально неблагоприятных погодных условиях пыльца имеет пониженную жизнеспособность, что сказывается на процессах опыления и оплодотворения. В связи с этим криоконсервирование пыльцы имеет большое значение, особенно для зон с неблагоприятными погодными условиями во время цветения растений. Этот метод хранения растительного материала позволяет использовать собранную в благоприятные годы качественную пыльцу с высокой жизнеспособностью при проведении селекционных скрещиваний и кроме того проводить гибридизацию сортов, обладающих ценными признаками, но различающихся по срокам цветения.

Цель нашей работы – изучение характера изменчивости жизнеспособности пыльцы до и после хранения ее в условиях сверхнизких температур жидкого азота (–196°C) и выявление возможной взаимосвязи между морфологическими особенностями и уровнем жизнеспособности пыльцы сортов черной смородины.

Материалы и методы

Жизнеспособность пыльцы черной смородины до и после криоконсервирования изучали в лаборатории длительного хранения генофонда растений (ЛДХГР) Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР). Объектами исследования служили 11 сортов черной смородины различного эколого-географического и генетического происхождения из генофонда, сохраняемого на научно-производственной базе (НПБ) «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» (Санкт-Петербург, Павловск) (табл. 1).

Сбор пыльцы изучаемых сортов проводили во II–III декадах мая. С кустов одного сорта в сухую погоду собирали по 200–250 хорошо развитых бутонов и в лабораторных условиях отделяли пыльники. В течение двух-трех суток пыльцу подсушивали до сыпучего состояния при температуре 21°C, затем ее помещали в криопробирки и замораживали прямым погружением в жидкий азот (–196°C), где она хранилась в течение шести месяцев. Для определения жизнеспособности пыльцу размораживали 5–10 минут на воздухе (21°C), затем проращивали без света в термостате (21°C) на агаризованной питательной среде, содержащей 10% сахарозы. На питательную среду в чашках Петри наносили суспензию пыльцы в каплях дистиллированной воды. Проросшей считали пыльцу с пыльцевой трубкой, длина которой была больше диаметра пыльцевого зерна. Количество проросших пыльцевых зерен подсчитывали под микроскопом Motik100M при 100-кратном увеличении в 30–50 случайных полях зрения в 6–8 каплях суспензии пыльцы (Pavlov et al., 2019).

Для морфологических исследований оболочки пыльцевых зерен с помощью светового и конфокального лазерного сканирующего (КЛСМ) микроскопов зерна обрабатывали по стандартному ацетолизному методу (Erdtman, 1952) в лаборатории палинологии Ботанического института имени В.Л. Комарова (БИН РАН). Описания и измерения проводили в лаборатории палинологии БИН РАН с помощью светооптического микроскопа «Микмед-6» при увеличениях 20 × 10, 40 × 10 и 100 × 10. Исследования на КЛСМ LSM-780 выполнены в Центре коллективного пользования БИН РАН научным оборудованием «Клеточные и молекулярные технологии изучения растений и грибов» (Gavrilova, 2014).

Метеорологические данные получены в отделе автоматизированных информационных систем генетических ресурсов растений (АИС ГРР) ВИР. Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета программ Microsoft Excel.

Погодные условия. В 2019 г. вегетация и цветение растений проходили в сложных метеорологических условиях (рис. 1). Холодная погода с перепадами суточных температур в первой и второй декадах апреля значительно замедлила вегетацию растений. Во второй половине месяца установилась жаркая сухая погода, спровоцировавшая раннее цветение, которое сопровождалось очередным понижением температуры воздуха.

Амплитуда температур в ночное и дневное время суток во время начала цветения растений составила 8,5–18,5°C. Все эти факторы оказали неблагоприятное воздействие на процесс формирования пыльцы в 2019 г.

Результаты и обсуждение

Анализ полученных нами данных позволил выявить существенные различия по уровню жизнеспособности пыльцы изученных сортов. Исходная жизнеспособность (К) у подавляющего числа образцов была невысокой и варьировала в зависимости от образца от

Таблица 1. Объекты исследования (НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР», 2019 г.)
Table 1. Target material of the research (Pushkin and Pavlovsk Laboratories of VIR, 2019)

№ по каталогу ВИР	Сорт	Географическое происхождение	Генетическая группа
15630А	Андреевская	Россия, Санкт-Петербург, ВИР	ESDRnScUs
41978	Белорусочка	Беларусь, Институт плодоводства НАН Беларуси	ESD
40514	Грация	Россия, Орел, ВНИИСПК	RgRnEDSScG
44158	Кача	Россия, Красноярск	ESD
7607	Красноярская 1018	Россия, Челябинск	S
42634	Олеша	Россия, Санкт-Петербург, ВИР	ESDSc
7652	Поздняя послевоенная	Россия, Санкт-Петербург, ВИР	ED
42481	Черешнева	Украина, Киев, ИС УААН	RnPetESD
44167	Albos	Эстония, Polli Horticultural Research Centre	ES
42517	Kriviai	Литва, Institute of Horticulture, Lithuanian Research Centre for Agriculture and Forestry	Sc × 67-59-2
25900	Tsema	Нидерланды	Происхождение неизвестно

Примечание: **E** – *Ribes nigrum* subsp. *europaeum* Jancz.; **S** – *R. nigrum* subsp. *sibiricum* Wolf E.; **D** – *R. dikuscha* Fisch. ex Turcz.; **Rn** – *R. nigrum* L.; **Us** – *R. ussuriense* Turcz.; **Rg**. – *R. glutinosum* Benth.; **G** – *Grossularia reclinata* (L.) Mill.; **Sc** – скандинавский экотип *R. nigrum*; **Pet** – *R. petraeum* Wulf.

Note: **E** – *Ribes nigrum* subsp. *europaeum* Jancz.; **S** – *R. nigrum* subsp. *sibiricum* Wolf E.; **D** – *R. dikuscha* Fisch. ex Turcz.; **Rn** – *R. nigrum* L.; **Us** – *R. ussuriense* Turcz.; **Rg**. – *R. glutinosum* Benth.; **G** – *Grossularia reclinata* (L.) Mill.; **Sc** – Scandinavian ecotype of *R. nigrum*; **Pet** – *R. petiolare* Dougl.

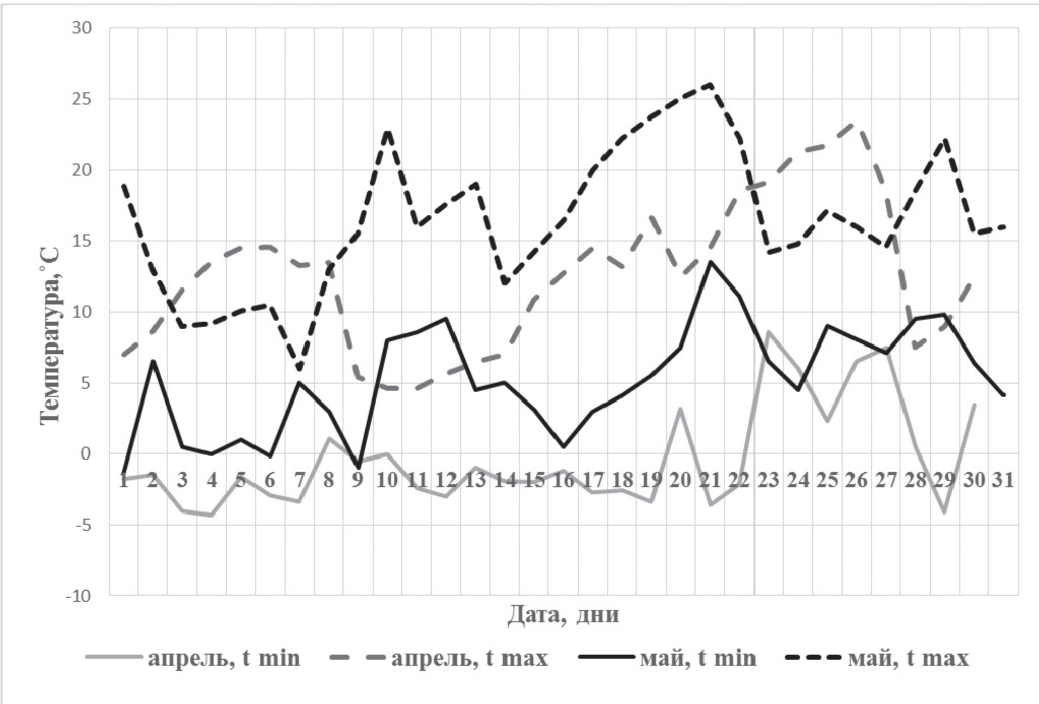


Рис. 1. Минимальные и максимальные температуры воздуха в апреле – мае 2019 г. (Санкт-Петербург)
Fig. 1. Minimum and maximum air temperatures in April/May 2019 (St. Petersburg)

17,98% до 58,60% (табл. 2). Самыми низкими показателями характеризовался сорт ‘Красноярская 1018’ (к-7607), являющийся сеянцем сибирского подвида смородины черной. Как известно, сибирский подвид самобесплоден, и этот признак наследуется потомством. Довольно близкими между собой, но невысокими по уровню жизнеспособности пыльцы оказались два сорта: ‘Поздняя послевоенная’ (к-7652), в геноме которой присутствуют гены европейского подвида *Ribes nigrum* L. и смородины дикуши (*R. dikuscha* Fisch. ex Turcz.), и сорт ‘Черешнева’ (к-42481), полученный путем сложных возвратных скрещиваний с потомками *Ribes petiolare* Dougl. У сортов ‘Tsema’ (к-25900), ‘Kriviai’ (к-42517) и ’Кача’ (к-44158) различия по количеству проросших пыльцевых зерен были незначительными (35,56–39,17%) (см. табл. 2). Более высокий процент прорастания пыльцы (44,79–49,68%) наблюдался у сортов ‘Albos’ (к-44167), ‘Олеша’ (к-42634) и ‘Белорусочка’ (к-41978). Показатели прорастания пыльцы у сорта ‘Андреевская’ (к-15630А), в геноме которого помимо генов европейского и сибирского подвидов и скандинавского экотипа смородины черной присутствуют гены и *R. ussuriense* Turcz., составили 55,56%. Самый высокий уровень жизнеспособности пыльцы (58,60%) наблюдался у сорта с обогащенной генетической наследственностью ‘Грация’ (к-40514), геном которого включает генетический материал двух подвидов смородины черной (*R. nigrum* subsp. *europaeum* Jancz. и *R. nigrum* subsp. *sibiricum* Wolf E.), скандинавского экотипа *R. nigrum*, а также *R. dikuscha*, *Grossularia reclinata* (L.) Mill. и *R. glutinosum* Benth.

послевоенная’, у которого после криоконсервирования произошло незначительное (на 5,44%) уменьшение количества проросших пыльцевых зерен по сравнению с контрольным вариантом.

Выявлены существенные статистически значимые различия по уровню жизнеспособности до и после экспозиции в жидком азоте у 8 из 11 изученных сортов. Сорта ‘Кача’, ‘Tsema’ и ‘Kriviai’, имевшие средние значения исходной жизнеспособности, после хранения в жидком азоте показали достоверное увеличение количества проросших пыльцевых зерен в 1,5; 1,6 и 2,1 раза соответственно. У сортов ‘Грация’ и ‘Андреевская’, характеризовавшихся самыми высокими исходными значениями жизнеспособности пыльцы, после криохранения также наблюдалось достоверное увеличение показателя в 1,32 и 1,45 раза, что составило 77,06 и 80,75% соответственно. Самая высокая величина жизнеспособности пыльцы после экспозиции в жидком азоте отмечена у сортов ‘Белорусочка’ – 81,6% (возросла в 1,64 раза) и ‘Черешнева’ – 84,93% (в 3,23 раза больше исходной).

Таким образом, статистически значимые показатели жизнеспособности пыльцевых зерен после криоконсервирования у сортов увеличиваются в 1,3–1,9 раза; только у одного образца (‘Черешнева’) жизнеспособность пыльцы превышает исходную более чем в три раза.

У сортов ‘Albos’, ‘Поздняя послевоенная’ и ‘Олеша’ процент проросших пыльцевых зерен после криоконсервирования достоверно не отличался от исходной жизнеспособности.

Таблица 2. Жизнеспособность пыльцы черной смородины, % (Лаборатория ДХГР, 2019)
Table 2. Viability of black currant pollen, % (Laboratory for Long-Term Storage of Plant Genetic Resources, 2019)

№	Сорт	До помещения в жидкий азот (К)	После нахождения в жидком азоте
1.	Андреевская*	55,56 ± 2,39	80,75 ± 2,55
2.	Белорусочка*	49,68 ± 2,31	81,59 ± 2,03
3.	Грация*	58,60 ± 2,55	77,06 ± 4,03
4.	Кача*	39,17 ± 2,07	60,24 ± 3,10
5.	Красноярская 1081*	17,98 ± 1,82	38,01 ± 3,71
6.	Олеша	49,39 ± 1,75	53,26 ± 3,00
7.	Поздняя послевоенная	24,26 ± 1,65	18,82 ± 2,45
8.	Черешнева*	26,28 ± 2,22	84,93 ± 2,96
9.	Albos	44,79 ± 1,92	48,18 ± 3,37
10.	Kriviai*	37,95 ± 2,17	79,29 ± 2,88
11.	Tsema*	35,56 ± 2,26	55,94 ± 3,49

***–** статистически значимые отличия при $p \leq 0,05$
*– statistically significant differences at $p \leq 0.05$

После хранения в жидком азоте диапазон вариабельности уровня жизнеспособности пыльцы в зависимости от образца составил 18,82–84,93% (см. табл. 2, рис. 2). Как показали исследования, у всех образцов, за исключением одного, жизнеспособность увеличилась на 3,39–58,65% или в 1,1–3,2 раза. Исключение составил сорт ‘Поздняя

Выявлена невысокая положительная корреляция между исходной жизнеспособностью и жизнеспособностью пыльцы после хранения ее в жидком азоте (r = 0,53).

Аналогичные результаты были получены ранее на пыльце других плодовых культур: вишни, черешни

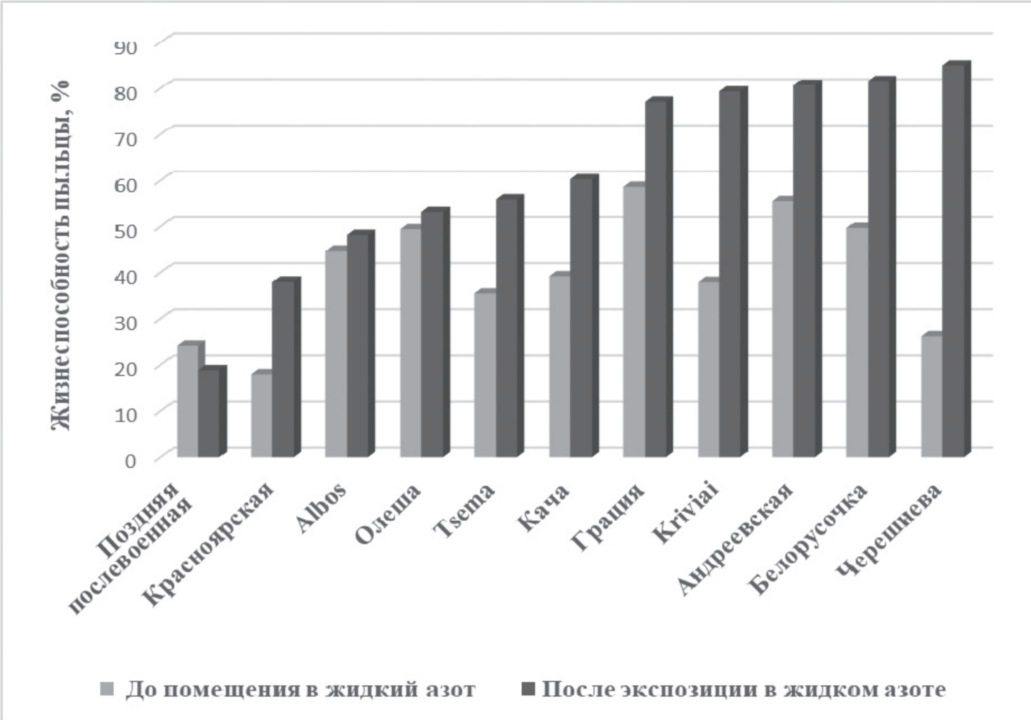


Рис. 2. Изменение уровня жизнеспособности пыльцы черной смородины после хранения в жидком азоте
(Лаборатория ДХГР, 2019)

Fig. 2. Changes in the level of black currant pollen viability after storage in liquid nitrogen
(Laboratory for Long-Term Storage of Plant Genetic Resources, 2019)

и сливы (Orlova et al., 2019; Pavlov et al., 2019), но у черной смородины повышение жизнеспособности пыльцы после криохранения в условиях сверхнизких температур (–196°C) отмечено у значительно большего числа сортов по сравнению с указанными культурами.

Для более полной характеристики пыльцевых зерен и в целом мужской репродуктивной сферы сортов до помещения их в жидкий азот нами было проведено исследование морфологических особенностей экзин как наиболее стабильных, сформированных под контролем центрального генома структур изучаемых образцов. Морфологические признаки оболочек пыльцевых зерен являются таксоноспецифичными.

Морфология пыльцевых зерен. Подробные морфометрические характеристики пыльцы изученных сортов и процент типичных, не отклоняющихся от нормы пыльцевых зерен в образце представлены в таблице 3.

Проведенное исследование позволило установить, что пыльца всех 11 исследованных сортов (рис. 3) в монадах, порово-оровая, сфероидальная, в очертании округлая, как и у других представителей подрода *Eucoreosma* (Jancz.) Berg. (Gavrilova, Tikhonova, 2019). Зерна имеют средние размеры, их величина варьирует от 20 до 43,2 μm в диаметре. У ряда изученных сортов (‘Albos’, ‘Поздняя послевоенная’, ‘Красноярская 1018’, ‘Олеша’, ‘Грация’ (рис. 3, a, b), ‘Андреевская’ (рис. 3, c), ‘Kriviai’) среди типичных, правильно сформированных зерен встречаются аномально мелкие, около 10 μm в диаметре. Доля очень мелких пыльцевых зерен в пределах образца у разных сортов различна. У сорта ‘Albos’ (рис. 3, e) относительно мелкие зерна (20–25 μm в диаметре) составляют 1/3 от общего количества просмотренных. Большое количество очень мелких зерен содержат сорта ‘Красноярская 1018’ и ‘Поздняя послевоенная’. У сортов ‘Олеша’, ‘Грация’, ‘Андреевская’ и ‘Kriviai’ очень мелкие пыльцевые зерна встречаются в единичном количестве. У сорта ‘Грация’, напротив, выявлены единичные увеличенные пыльцевые зерна. Кроме того, у сортов ‘Олеша’ и ‘Белорусочка’ встречается много мятых и даже совсем сплющенных пыльцевых зерен. У сортов ‘Tsema’ (рис. 3, j, k) и ‘Белорусочка’ отмечены единичные нераспавшиеся тетрады.

Как показали исследования, наибольший процент (83,1–100%) правильно сформированных пыльцевых зерен отмечен у сортов ‘Кача’, ‘Олеша’ и ‘Андреевская’ (см. табл. 3).

Сорта отличаются друг от друга разбросом размеров пыльцевых зерен (рис. 4). Наибольший разброс по величине диаметра пыльцевого зерна отмечен у сортов ‘Олеша’, ‘Андреевская’ и ‘Красноярская 1018’; наименьший – у сорта ‘Кача’. Небольшие различия между минимальными и максимальными значениями размеров пыльцевых зерен имеют сорта ‘Черешнева’ и ‘Kriviai’. У остальных сортов диапазон изменчивости диаметра пыльцевого зерна невелик (см. рис. 4).

Выявлена очень слабая положительная корреляция между диаметром пыльцевого зерна и степенью его жизнеспособности (r = 0,27).

Пыльца всех исследованных сортов имеет сложные апертуры, состоящие из эктоапертурной (поровидной или бороздовидной) и эндоапертурной (поры) областей. Апертуры глобально расположены. Эктоапертуры с неровными, рваными краями главным образом округлые, поровидные, поэтому соотношение длины к ширине эктоапертурной области немногим больше единицы (см. табл. 3), как и у представителей подрода *Eucoreosma* (Gavrilova, Tikhonova, 2019) У сорта ‘Kriviai’ (см. рис. 3, g) встречаются борозды вдоль всего зерна, что отмечалось ранее у смородинно-крыжовниковых гибридов (Gavrilova, Tikhonova, 2017). Эндоапертуры (поры) округлые, с ровными краями, чаще всего одна пора расположена в центре эктоапертурной области, редко встречаются эктоапертуры без пор или с двумя-тремя порами. Как пра-

Таблица 3. Морфометрическая характеристика пыльцы сортов черной смородины
(Лаборатория палинологии, БИН РАН, 2019 г.)

Table 3. Pollen morphometric characteristics of black currant cultivars
(Palynology Laboratory of BIN, 2019)

Название образца	Диаметр, μm x / min–max	Количество пор, шт. x	Диаметр поры, μm x / min–max	Длина эктоапертур, μm x / min–max	Ширина эктоапертур, μm x / min–max	Соотношение длины/ширины эктоапертур	Толщина экзины, μm	% типичных пыльцевых зерен
Albos	28,3 / 20,0–32,8	7	4,3 / 1,6–5,7	12,9 / 9,8–16,2	10,0 / 7,5–11,8	1,29	1,2–2,0	77,2
Кача	33,7 / 33,0–36,9	7	4,7 / 2,6–8,3	17,4 / 10,5–30,3	9,1 / 7,5–11,5	1,91	1,0–1,5	100,0
Поздняя послевоенная	32,0 / 24,7–36,4	8	3,0 / 2,0–5,1	14,6 / 9,3–22,2	9,3 / 4,9–11,7	1,53	0,9–1,4	73,4
Tsema	29,2 / 21,5–33,6	5	4,3 / 2,8–5,8	16,0 / 9,2–22,6	8,9 / 4,3–12,7	1,79	0,9–2,9	76,2
Красноярская 1081	28,9 / 20,5–36,9-	6	4,9 / 3,3–6,7	17,3 / 11,9–24,3	12,1 / 8,9–16,8	1,43	0,9–2,5	67,1
Олеша	30,5 / 16,5–40,3	6	3,5 / 1,8–6,2	13,6 / 9,8–16,4	9,8 / 6,6–14,3	1,39	1,2–1,8	92,9
Белорусочка	34,5 / 29,7–43,2	6	4,7 / 3,2–8,8	17,8 / 11,5–26,1	12,4 / 8,6–15,3	1,43	0,8–2,0	59,8
Черешнева	31,0 / 27,0–33,7	6	4,1 / 2,5–5,1	16,1 / 10,4–26,3	11,5 / 4,3–14,8	1,40	1,2–2,0	73,3
Грация	31,3 / 22,8–36,4	6	4,0 / 1,5–6,4	16,7 / 11,4–25,8	10,8 / 9,0–14,9	1,54	0,8–1,4	75,1
Андреевская	28,6 / 12,5–34,8	7	3,6 / 2,1–7,3	14,9 / 10,2–21,5	10,9 / 7,2–14,2	1,37	1,0–1,8	96,3
Kriviai	31,4 / 25,9–35,4	6	4,9 / 3,6–6,3	19,3 / 14,5–29,5	13,0 / 4,2–18,4	1,48	1,0–1,6	83,1

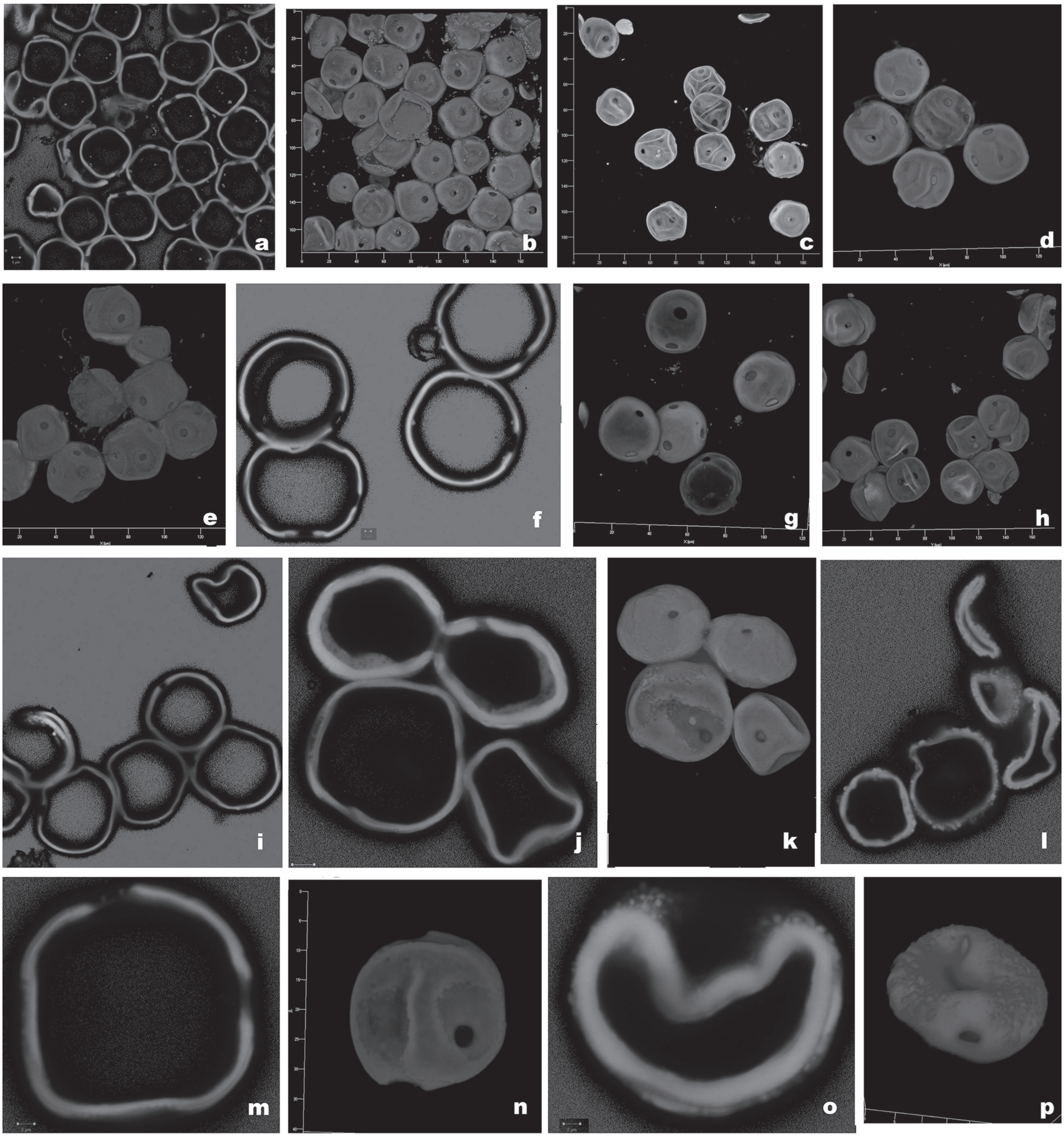


Рис. 3. Микрофотографии пыльцевых зерен, полученные с помощью конфокального лазерного микроскопа:
a, **b** – Грация; **c** – Андреевская; **d** – Кача; **e** – Albos; **f**, **g** – Kriviai; **h** – Белорусочка; **i** – Поздняя послевоенная; **j**, **k** – Tsema; **l–p** – Красноярская 1018; **b** – **e**, **g**, **h**, **k**, **n**, **p** – общий вид реконструированных пыльцевых зерен; **a**, **f**, **i**, **l**, **m**, **o** – оптические срезы через пыльцевые зерна

Fig. 3. Microimages of pollen grains made with a confocal laser scanning microscope:
a, **b** – Gratsiya; **c** – Andreyevskaya; **d** – Kacha; **e** – Albos; **f**, **g** – Kriviai; **h** – Belorusochka; **i** – Pozdnyaya poslevoennaya; **j**, **k** – Tsema; **l–p** – Krasnoyarskaya 1018; **b** – **e**, **g**, **h**, **k**, **n**, **p** – view on the reconstructed pollen grains; **a**, **f**, **i**, **l**, **m**, **o** – optical sections across pollen grains

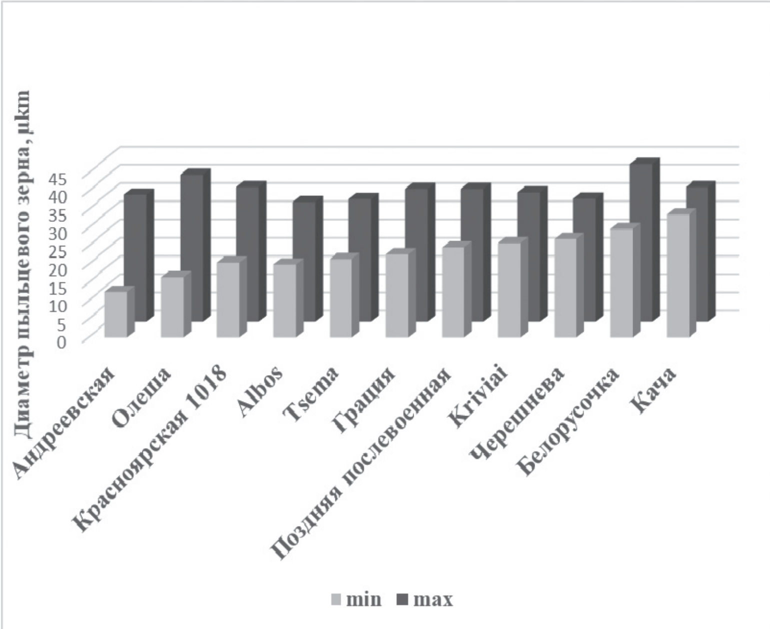


Рис. 4. Диапазон изменчивости диаметра пыльцевых зерен сортов черной смородины
(Лаборатория палинологии, БИН РАН, 2019 г.)

Fig. 4. Variability range for the pollen grain diameter in black currant cultivars
(Palynology Laboratory of BIN, 2019)

вило, число пор у пыльцевых зерен исследуемых сортов варьирует от 5 до 9 штук. По средним значениям величины диаметра пор изученные сорта различаются несущественно. Эта величина составляет в среднем 3,0–4,9 µm, однако внутрисортовая изменчивость показателя более значительна и варьирует в зависимости от сорта от 1,6 до 8,8 µm (см. табл.3; рис. 5). Мелкие пыльцевые зерна имеют, как правило, поры меньшего диаметра. Самая большая разница между минимальными и максимальными значениями диаметра поры отмечена у сортов ‘Кача’, ‘Белорусочка’, ‘Андреевская’, ‘Грация’, ‘Albos’ и ‘Олеша’ (см. рис. 5).

Выявлена невысокая положительная корреляция между диаметром поры и уровнем жизнеспособности изученных сортов ($r = 0{,}43$).

Экзина пыльцевых зерен изученных сортов двухслойная, обычно толщиной от 0,8 до 1,6 µm, однако у мелких и уродливых зерен она может быть утолщена в два, иногда даже в три раза. Такие утолщения экзины отмечены у сортов ‘Albos’, ‘Tsema’ (см. рис. 3, j), ‘Красно-

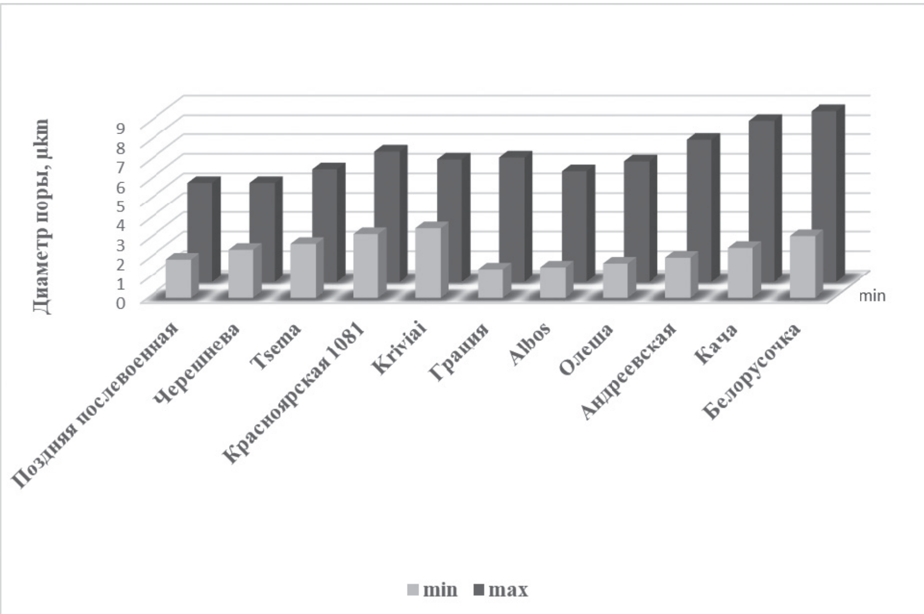


Рис. 5. Размах изменчивости диаметра поры у сортов черной смородины
(Лаборатория палинологии, БИН РАН, 2019 г.)

Fig. 5. Variability range for the pore diameter in black currant cultivars
(Palynology Laboratory of BIN, 2019)

ярская 1018' (см. рис. 3, о), редко – у сортов 'Белорусочка' и 'Андреевская'. Утолщения экзины свидетельствуют о неправильном развитии пыльцевого зерна, что, вероятно, сказывается на способности его к прорастанию.

Выявлена слабая отрицательная корреляция между толщиной экзины и уровнем жизнеспособности сорта (r = –0,33).

Поверхность мезокольпиума у типичных пыльцевых зерен гладкая или шероховатая. У сортов 'Tsema' и 'Красноярская 1018' в довольно большом количестве обнаруживаются пыльцевые зерна с бородавчатой или мелкобородавчатой спородермой (см. рис. 3, р).

Более ранними исследованиями авторов (Gavrilova, Tikhonova, 2017) было показано, что мелкие пыльцевые зерна, имеющие размеры в 2–3 раза меньше чем обычные пыльцевые зерна, а также зерна с аномальным бородавчатым строением спородермы, являются стерильными. Наши исследования подтверждают сделанный ранее вывод. Пониженный уровень жизнеспособности пыльцы, который наблюдался в нашем опыте у ряда сортов, может быть обусловлен аномальным развитием мужской генеративной сферы, что привело к изменениям морфологии пыльцевых зерен, таких как разноразмерность, наличие большого количества аномально мелких зерен ('Поздняя послевоенная', 'Красноярская 1018'), утолщение экзины, бородавчатая или мелкобородавчатая поверхность мезопориума ('Tsema', 'Красноярская 1018').

Не прослеживается взаимосвязи между повышением жизнеспособности пыльцы, которое было отмечено у большинства изученных сортов после хранения в жидком азоте (–196°С), и особенностями морфологии спородермы. Мы полагаем, что увеличение жизнеспособности пыльцы после криоконсервирования может быть связано со стрессовым воздействием и находит выражение в ультраструктурных изменениях клеточного содержимого пыльцы и интины, а не экзины пыльцевого зерна.

Заключение

Погодные условия, сложившиеся в 2019 г., оказали неблагоприятное воздействие на формирование мужской генеративной сферы. Жизнеспособность пыльцы изученных сортов была невысокой и составила в зависимости от сорта 17,98 ± 1,82% ('Красноярская 1018') до 58,60 ± 2,55% ('Грация').

Помимо погодных условий, жизнеспособность пыльцы определяется сортовыми особенностями.

Пониженная жизнеспособность пыльцы сортов 'Красноярская 1018', 'Tsema', 'Поздняя послевоенная' связана с аномальным развитием мужских гаметофитов, следствием чего явились морфологические отклонения в строении спородермы, выраженные в разноразмерности пыльцевых зерен, утолщении экзины и формировании бородавчатых поверхностей мезопориума.

Диапазон изменчивости показателей жизнеспособности после криоконсервирования составил от 18,82 ± 2,45% ('Поздняя послевоенная') до 84,93 ± 2,96 ('Черешнева'). После хранения в жидком азоте в течение шести месяцев отмечено достоверное увеличение уровня жизнеспособности пыльцы у 8 из 11 исследованных сортов в 1,1–3,2 раза.

Между исходной жизнеспособностью и жизнеспособностью пыльцы после криоконсервирования выявлена невысокая положительная корреляция (r = 0,53). Уровень жизнеспособности пыльцы в слабой степени связан с размерами пыльцевого зерна (r =0,27) и поры (r =0,43) и в слабой отрицательной степени – с толщиной оболочки пыльцевого зерна (r = –0,33).

Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0662-2019-0004 «Коллекции вегетативно размножаемых культур (картофель, плодовые, ягодные, декоративные, виноград) и их диких родичей ВИР – изучение и рациональное использование».

Морфологические исследования проведены в рамках государственного задания согласно тематическому плану БИН РАН АААА-А19-119080790048-7.

The research was performed within the framework of the State Task according to the theme plan of VIR, Project No. 0662-2019-0004 "Collections of Vegetatively Propagated Crops (Potato, Fruit, Berry and Ornamental Crops, Grapes) and Their Wild Relatives at VIR: Studying and Sustainable Utilization".

Morphological research was conducted within the framework of the State Task according to the theme plan of BIN RAS, No. AAAA-A19-119080790048-7.

References/Литература

Erdtman G. Pollen morphology and plant taxonomy – Angiosperms: An introduction to palynology. Vol. 1. Stockholm: Almquist and Wiksell; 1952.

Gavrilova O.A. Application of confocal laser scanning microscope to the study of pollen wall morphology. *Botanicheskii zhurnal = Botanical Journal*. 2014;99(10):1139-1147. [in Russian] (Гаврилова О.А. Применение конфокальной лазерной сканирующей микроскопии для исследования морфологии оболочки пыльцевых зерен. *Ботанический журнал*. 2014;99(10):1139-1147).

Gavrilova O.A, Tikhonova O.A. On reproductive biology of distant hybrids in the Grossulariaceae family. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding.* 2017;178(4):100-118. [in Russian] (Гаврилова О.А., Тихонова О.А. К репродуктивной биологии отдаленных гибридов в семействе Grossulariaceae. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции.* 2017;178(4):100-118). DOI: 10.30901/2227-8834-2017-4-100-118

Gavrilova O.A, Tikhonova O.A. Pollen morphology of the family Grossulariaceae and some taxonomical implication. *Plant Systematics and Evolution.* 2019;305(7):521-530). DOI: 10.1007/s00606-019-01590-6

Golubinsky I.N. Biology of pollen germination. Kiev: Naukova Dumka; 1974. [in Russian] (Голубинский И.Н. Биология прорастания пыльцы. Киев: Наукова думка; 1974).

Kiseleva A.A, Verzhuk V.G., Savelyev N.I., Dorohov D.S., Zheltikov Y.V., Eremina O.V., Potokina E.K., Dzjubenko N.I. Methods to monitor genetic integrity of cryopreserved fruit germplasm. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding.* 2012;169:280-288. [in Russian] (Киселева А.А, Вержук В.Г, Савельев Н.И, Дорохов Д.С., Желтиков Ю.В., Еремина О.В., Потокина Е.К., Дзюбенко Н.И. Методы мониторинга генетической стабильности плодовых культур в условиях криоконсервации. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции.* 2012;169:280-288).

Koteyeva N.K., Mirgorodskaya O.E., Bulisheva M.M., Miroslavov E.A. Pollen development in *Ribes nigrum* (*Grossulariaceae*) in relation to the low temperature period. *Botanicheskii zhurnal = Botanical Journal*. 2015;100(10):1001-1014. [in Russian] (Котеева Р.Л., Миргородская О.Е., Булышева М.М., Мирославов Е.А. Формирование пыльцы *Ribes nigrum* (*Grossulariaceae*) в связи с периодом пониженных температур. *Ботанический журнал*. 2015;100(10):1001-1014).

Nikolaevskaya T.S., Vetchinnikova L.V., Titov A.F., Lebedeva O.N. Study of pollen in native and introduced *Betula* L. species in Karelia. In: *Transactions of Karelian Research Centre of Russian Academy of Science.* 2009;(4):90-95. [in Russian] (Николаевская Т. С., Ветчинникова Л В., Титов А.Ф., Лебедева О.Н. Изучение пыльцы у аборигенных и интродуцированных в условиях Карелии представителей рода *Betula* L. *Труды Карельского научного центра РАН*. 2009;(4):90-95).

Orlova S.Yu., Pavlov A.V., Verzhuk V.G. Viability of pollen in sweet cherry (*Cerasus avium*) varieties of different ecogeographic origin in the Northwestern region of Russia. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2019;180(1):66-72. [in Russian] (Орлова С.Ю., Павлов А.В., Вержук В.Г. Жизнеспособность пыльцы сортов черешни (*Cerasus avium*) различного эколого-географического происхождения в условиях Северо-Западного региона России. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции.*2019;180(1):66-72). DOI: 10.30901/2227-8834-2019-1-66-72

Pavlov A.V., Verzhuk V.G., Orlova S.Yu., Radchenko O.E., Erastenkova M.V., Dodonova A.Sh. et al. Cryopreservation as a method to preserve some fruit and berry crops and wild medicinal plants. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine.* 2019;29(1):44-57. [in Russian] (Павлов А.В., Вержук В.Г., Орлова С.Ю., Радченко О.Е., Ерастенкова М.В., Додонова А.Ш. и др. Криоконсервирование как метод сохранения биоразнообразия плодово-ягодных культур и дикорастущих лекарственных растений. *Проблемы криобиологии и криомедицины*, 2019;29(1):44-57). DOI: 10.15407/cryo29.01.044

Sitnikov M.N., Verzhuk V.G., Pavlov A.V., Bondaruk D.D. The analysis of apricot and sweet cherry pollen viability after cryopreservation. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding.* 2018;179(3):152-158. [in Russian] (Ситников М.Н., Вержук В.Г., Павлов А.В., Бондарук Д.Д. Анализ жизнеспособности пыльцы абрикоса и черешни после криоконсервации. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции.* 2018;179(3):152-158). DOI: 10.30901/2227-8834-2018-3-152-158

Tikhonova N.G, Filipenko G.I, Verzhuk V.G, Zhestkov A.S. Strategy and methods of long-term storage of gene fond of plants. *Problems of Cryobiology*. 2008;18(2):227. [in Russian] (Тихонова Н.Г, Филипенко Г.И, Вержук. В.Г, Жестков А.С. Стратегия и методы длительного хранения генофонда растений. *Проблемы криобиологии* 2008;18(2):227).

Zamburova D.S., Sherieva S.A., Sitnikov M.N., Bogotova Z.I., Gidova E.M, Paritov A.Yu., Handohov T.H., Karmokova M.K. Study viable pollen after exposure to fruit crops ultralow temperatures. *Modern Problems of Science and Education*. 2016;(3):e24849. [in Russian] (Замбурова Д.С., Шериева С.А., Ситников М.Н., Боготова З.И., Гидова Э.М., Паритов А.Ю. и др. Изучение жизнеспособности пыльцы плодовых культур после воздействия сверхнизких температур. *Современные проблемы науки и образования.* 2016(3):e24849). URL: http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24849 (дата обращения: 15.04.2020).

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

Тихонова О.А., Гаврилова О.А., Радченко Е.А., Вержук В.Г., Павлов А.В. Жизнеспособность пыльцы черной смородины до и после криоконсервирования в жидком азоте и особенности ее морфологии. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(3):110-119. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-110-119

Tikhonova O.A., Gavrilova O.A., Radchenko E.A., Verzhuk V.G., Pavlov A.V. Viability of black currant pollen before and after cryopreservation in liquid nitrogen, and its morphological features. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(3):110-119. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-110-119

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/10.30901/2227-8834-2020-3-110-119

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
Tikhonova O.A. https://orcid.org/0000-0002-0319-1477
Gavrilova O.A. https://orcid.org/0000-0003-2640-9659
Radchenko E.A. https://orcid.org/0000-0002-3015-4735
Verzhuk V.G. https://orcid.org/0000-0002-6891-6272
Pavlov A.V. https://orcid.org/0000-0003-4319-0353

Устойчивость допущенных к использованию в России сортов ячменя к вредным организмам и токсичным ионам алюминия

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-120-127
УДК 633.16: 58.051
Поступление/Received: 09.04.2020
Принято/Accepted: 21.09.2020

Resistance of barley cultivars approved for use in Russia to harmful organisms and toxic aluminum ions

Р. А. АБДУЛЛАЕВ [1], Б. А. БАТАШЕВА [2]*, Н. В. АЛПАТЬЕВА [1], М. А. ЧУМАКОВ [1], Е. Е. РАДЧЕНКО [1], О. Н. КОВАЛЕВА [1], О. В. ЯКОВЛЕВА [1]

[1] *Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44*
abdullaev.1988@list.ru

[2] *Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Дагестанская опытная станция – филиал ВИР, 368612 Россия, Республика Дагестан, г. Дербент, с. Вавилово*
* *kostek-kum@rambler.ru*

R. A. ABDULLAEV [1], B. A. BATASHEVA [2]*, N. V. ALPATIEVA [1], M. A. CHUMAKOV [1], E. E. RADCHENKO [1], O. N. KOVALEVA [1], O. V. YAKOVLEVA [1]

[1] *N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia*
abdullaev.1988@list.ru

[2] *N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, Dagestan Experiment Station of VIR, Vavilovo Village, Derbentsky District, Republic of Dagestan 368612, Russia*
* *kostek-kum@rambler.ru*

Актуальность. Наиболее рациональный способ снижения потерь урожая ячменя от болезней, вредителей и неблагоприятных эдафических факторов – селекция устойчивых сортов. Цель работы – оценить диапазон изменчивости возделываемых в России сортов по устойчивости к мучнистой росе, карликовой ржавчине, обыкновенной злаковой тле и токсичным ионам алюминия. **Материалы и методы.** Изучили 248 сортов ячменя (168 – отечественной и 80 – зарубежной селекции), включенных в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию в РФ. Устойчивость растений к возбудителям мучнистой росы и карликовой ржавчины исследовали в лабораторных и полевых условиях. Выделившиеся по устойчивости к мучнистой росе сорта анализировали с помощью молекулярных маркеров. В лаборатории осуществили скрининг ячменя по устойчивости к обыкновенной злаковой тле. Для изучения чувствительности образцов к токсичным ионам алюминия использовали лабораторный метод ранней диагностики признака – метод корневого теста. **Результаты и выводы**. Полевой и лабораторный скрининг позволил выявить довольно широкое разнообразие возделываемых в России сортов ячменя по устойчивости к вредным организмам и эдафическому стрессору. Установлено, что 24 сорта устойчивы к мучнистой росе, из них 14 являются носителями эффективного аллеля *mlo11*. Два сорта устойчивы к возбудителям мучнистой росы и карликовой ржавчины. У 11 сортов выявлена отчетливо выраженная устойчивость к обыкновенной злаковой тле. Высокая устойчивость к токсичным ионам алюминия по индексу длины корня и ростка отмечена у 26 сортов. Выявлены образцы с комплексной устойчивостью к вредным организмам и эдафическому стрессору.

Ключевые слова: *Hordeum vulgare* L., резистентность, мучнистая роса, карликовая ржавчина, обыкновенная злаковая тля, алюминий.

Background. The most rational way to reduce barley crop losses from diseases, pests and adverse edaphic factors is cultivation of resistant varieties. The specificity of the host–pathogen interactions necessitates a constant search for new donors of resistance for breeding, and phytosanitary monitoring of cultivars. **Materials and methods.** The research material comprised 248 barley cultivars included in the State Register of Selection Achievements Admitted for Usage in the Russian Federation – 168 were developed domestically, and 80 by foreign breeders. Their resistance to powdery mildew and leaf rust was studied in under laboratory and field conditions. Barley cultivars distinguished for powdery mildew resistance were analyzed using molecular markers. In the laboratory, barley was screened for greenbug resistance. To study the sensitivity to toxic aluminum ions in barley, we used the laboratory method for the early diagnosis of the trait – the root test method. **Results and conclusions.** Field and laboratory screening revealed a fairly wide diversity of barley cultivated in Russia in terms of resistance to harmful organisms and the edaphic stressor. It was established that 24 barley cultivars were resistant to powdery mildew, and 14 accessions were carriers of the effective *mlo11* allele. Two cultivars manifested combined resistance to powdery mildew and barley leaf rust. In 11 cultivars, a distinct greenbug resistance was revealed. High resistance to toxic aluminum ions according to the root and sprout length indices was observed in 26 cultivars. Accessions with the complex resistance to harmful organisms and the edaphic stressor were identified.

Key words: *Hordeum vulgare* L., resistance, powdery mildew, leaf rust, greenbug, aluminum.

Введение

Ячмень (*Hordeum vulgare* L.) – одна из важнейших зерновых культур в мире. В основных регионах выращивания ячменя достаточно часто отмечается неблагоприятное сочетание климатических и почвенных условий. Ячмень более устойчив к сезонным колебаниям в сравнении с пшеницей и большинством других зерновых культур, однако значительная часть урожая теряется в результате деградации почвенного плодородия, распространения на посевах вредителей и болезней. Наиболее рациональным способом решения этой проблемы является селекция устойчивых сортов.

Ячмень относительно восприимчив к избыточной почвенной кислотности (Wu et al., 2018). Одним из самых распространенных токсикантов, ограничивающих продуктивность растений на кислых почвах, является алюминий. Широко распространенные алюмосиликатные минералы не токсичны для растений, а вредное влияние возникает при высвобождении ионов Al^{3+} из минералов в почвенный раствор с pH ниже 5. При этом замедляются рост и развитие растений, что приводит к уменьшению сбора зерна и даже гибели растений (Panda et al., 2009; Yakovleva, 2018). Большинство исследований показало, что толерантность к вредному воздействию алюминия у ячменя контролируется одним или двумя доминантными генами, а также генами с малым эффектом (Minella, Sorrells, 1997; Wang et al., 2006; Rigin, Yakovleva, 2006; Bian et al., 2015), однако есть сведения, что отсутствие чувствительности к ионам алюминия у ячменя является количественным признаком и может зависеть от концентрации токсичного элемента (Navakode et al., 2009).

Дифференциальное взаимодействие подавляющего большинства вредных организмов с растением-хозяином обусловливает необходимость перманентного поиска новых устойчивых форм для вовлечения их в селекцию с целью расширения генетического разнообразия возделываемых сортов ячменя.

Мучнистая роса ячменя (возбудитель – *Blumeria graminis* (DC.) Golovin ex Speer f. sp. *hordei* Marchal) и карликовая ржавчина (*Puccinia hordei* G.H. Otth.) – наиболее распространенные и вредоносные заболевания ячменя в России. Патогены поражают практически все надземные части растения, но преимущественно стебель и листья. Описано свыше 100 генов, контролирующих устойчивость ячменя к мучнистой росе, большая часть которых является аллельными вариантами локусов *Mla* и *Mlo*. Так, известны 39 аллелей гена *Mla* (хромосома 1H) и 44 – *Mlo* (хромосома 4H) (Jørgensen, 1994; Seeholzer, 2009; Reinstädler et al., 2010; Kusch, Panstruga, 2017). К сожалению, большая часть идентифицированных генов уже не эффективна против популяций *B. graminis*. Длительную устойчивость ячменя к патогену во всем мире обеспечивают ген *mlo11* и отчасти *mlo9*. В настоящее время 75% выращиваемых в Европе сортов защищены этими генами (Dreiseitl, 2017). Устойчивость к возбудителю карликовой ржавчины контролируется 26 генами *Rph* (Park et al., 2015; Kavanagh et al., 2017; Yu et al., 2018), причем, как и в случае с *B. graminis*, большинство аллелей неэффективны против *P. hordei*.

Обыкновенная злаковая тля (*Schizaphis graminum* Rondani) – один из самых распространенных вредителей зерновых, причем ячмень наиболее предпочитаем насекомыми (Schwessing, Wilde, 1979). Известно лишь два гена (*Rsg1* и *Rsg2*), определяющих специфическую устойчивость к вредителю (Porter et al., 2007). Сведения об устойчивости к фитофагу возделываемых в России сортов отсутствуют.

Цель настоящей работы – оценить диапазон изменчивости допущенных к использованию в России сортов ячменя по устойчивости к мучнистой росе, карликовой ржавчине, обыкновенной злаковой тле и токсичным ионам алюминия.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили 248 сортов ячменя, включенных в Государственный реестр селекционных достижений и допущенных к использованию на территории России. Изученная коллекция состояла из образцов отечественной (168) и зарубежной (80) селекции.

Оценку устойчивости к *B. graminis* проводили в лабораторных и полевых условиях. В климатической камере Barnstead 845-2 при 12-часовом фотопериоде и температуре 16°C (день) и 13°C (ночь) изучили 248 сортов. По 20 зерен изучаемых образцов высевали в пластиковые кюветы на смоченную водой вату, помещали в климатическую камеру, и через неделю проростки заражали путем стряхивания на них конидий гриба с сильно пораженных мучнистой росой растений. Растения инокулировали северо-западной (Санкт-Петербург, Пушкин) популяцией *B. graminis*. Оценку устойчивости проводили с помощью шкалы от 0 (высокоустойчивый) до 4 (Mains, Dietz, 1930).

У выделившихся по устойчивости к мучнистой росе сортов с помощью молекулярных маркеров идентифицировали ген неспецифической устойчивости *mlo11*, широко использовавшийся в селекционных программах стран Европы (Dreiseitl, 2017). Геномную ДНК выделяли из семидневных проростков по методике D. B. Dorokhov, E. A. Klocke (1997) с модификациями (Anisimova et al., 2018). Концентрацию ДНК определяли с помощью спектрофотометра Implen NanoPhotometer. Для идентификации локуса *mlo11* использовали пары праймеров ADUP7-Mlo6 и Mlo6-Mlo10 (Piffanelli et al., 2004). Последовательности праймеров представлены в таблице 1. ПЦР проводили в объеме 25 мкл смеси, содержавшей 1Х ПЦР буфер, dNTPs (0,2 мМ каждого), праймеры (0,25 мкМ каждого), $MgCl_2$ (2 мМ), 50 нг геномной ДНК, 1 е.а. Taq ДНК полимеразы (Диалат). Ам-

Таблица 1. Праймеры для идентификации аллеля *mlo11*

Table 1. Primers for the *mlo11* allele identification

Праймер	Нуклеотидные последовательности (5′–3′)	Литературный источник
ADUP7 Mlo6 Mlo10	CTCAAGCTTGCCACCATGTCGGACAAAAAAGGG CATCTACTACTAGCATGTACC GTCCTGCCACCTAAGTAGCAG	P. Piffanelli et al. (2004)

плификацию выполняли на приборе ICycler (Bio-Rad, США) в следующем режиме: 5 мин при 94°C, 35 циклов при 94°C (30 сек), 47°C или 55°C (30 сек), 72°C (30 сек) и финальная элонгация 72°C (7 мин). Детекцию продуктов амплификации проводили в 1,5-процентном агарозном геле. Для оценки размера фрагментов использовали ДНК-маркер FastRuler Middle Range DNA Ladder (Fermentas).

В 2019 г. на экспериментальном поле научно-производственной базы «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» (Санкт-Петербург, Пушкин) изучили устойчивость сортов ячменя к возбудителям мучнистой росы и карликовой ржавчины. Устойчивость оценивали в период колошения и в фазу молочной спелости зерна с помощью балловых шкал от 1 (устойчивость очень низкая) до 9 (Loskutov et al., 2012). В качестве восприимчивого контроля использовали сорт ярового ячменя ‘Белогорский’ (к-22089, Ленинградская обл.).

Скрининг сортов ячменя по устойчивости к *S. graminum* проводили в лабораторных условиях при 16-часовом фотопериоде и температуре воздуха 20–25°C. Семена изучаемых сортов и восприимчивого контроля (сорт ‘Белогорский’) высевали рядами в кюветы с почвой. Ювенильные растения заселяли краснодарской (Кубанская опытная станция – филиал ВИР, Гулькевичский район) популяцией тли из расчета 4 особи на растение. При гибели контрольного сорта (обычно на 10–14 день после заселения) образцы оценивали по шкале от 0 (нет повреждений) до 10 (повреждено 91–100% листовой поверхности). Растения с баллами 1–4 относили к устойчивому классу, 9–10 – к восприимчивому (Radchenko, 2008). Выделившиеся образцы тестировали повторно.

Для изучения чувствительности ячменя к токсичным ионам алюминия использовали лабораторный метод ранней диагностики признака – метод корневого теста (Yakovleva et al., 2009; Yakovleva, Kovaleva, 2015). Средние значения длины зародышевых корней в опыте (185 мкМ Al^{3+}, pH = 4,0) соотносили со средним значением длины в контроле (без добавления солей алюминия, pH = 6,5) и рассчитывали индекс длины корня. Одновременно измеряли длину ростка и затем определяли индекс его длины (ИДР), используя этот показатель как дополнительный тестовый признак. В качестве сортов-тестеров брали сорта с известной алюмоустойчивостью: ‘Полярный 14’ и ‘Московский 121’. По степени чувствительности к ионам алюминия изученные образцы распределяли на 5 групп. К первой группе относили сорта с высокой устойчивостью (ИДК > 0,81), к пятой – неустойчивые (ИДК < 0,30).

Результаты и обсуждение

Скрининг допущенных к использованию на территории России сортов продемонстрировал довольно широкое разнообразие ячменя по резистентности к *B. graminis.* Устойчивостью, более или менее выраженной, характеризовались 24 сорта (табл. 2). Образцы к-29914, к-30983, к-31289 умеренно устойчивы только на ювенильной стадии развития. Двенадцать изученных форм устойчивы к мучнистой росе в период колошения и в фазу молочной спелости, но восприимчивы к патогену в ювенильной фазе. Гетерогенными при искусственном заражении оказались два образца (к-31062, к-31250).

Таблица 2. Сорта ячменя, выделившиеся по устойчивости к мучнистой росе
Table 2. Barley cultivars with resistance to powdery mildew

№ по каталогу ВИР	Образец	Происхождение	Разновидность	Устойчивость, балл		Наличие *mlo11*
				взрослые растения	всходы	
27038	Московский 2	РФ, Московская обл.	*nutans*	7	3	–
30591	Рахат	«	«	7	2	–
30844	Хаджибей	РФ, Белгородская обл.	«	7	2	–
31289	Краснояружский 6	«	*pallidum*	5	2	–
31291	Осколец	«	*nutans*	7	4	–
30847	Ясный	РФ, Ростовская обл.	«	7	3	–
30958	Тонус	«	«	7	2	–
31301	Новик	«	*ricotense*	7	2	–
30983	Вакула	РФ, Ставропольский край	*pallidum*	5	2	–
31045	Прикумский 47	«	*nutans*	7	4	–
31134	Странник	«	«	7	4	–
29914	Гонар	Беларусь	«	5	2	–
31122	Поспех	«	«	7	3	–
31173	Талер	«	*ricotense*	7	1	–
29010	Одесский 115	Украина	*nutans*	7	3	–

Таблица 2. Окончание
Table 2. The end

№ по каталогу ВИР	Образец	Происхождение	Разновидность	Устойчивость, балл		Наличие *mlo11*
				взрослые растения	всходы	
31062	Персей	«	«	7	1, 3	–
31097	Южанин	«	«	7	4	–
31169	Эвергрин	Дания	«	7	0	+
31241	Quench	«	«	7	1	+
31297	Cheerio	«	«	7	0	–
31323	Katy	«	«	7	2	+
31247	Tipple	Великобритания	«	7	2	–
31305	Overture	«	«	7	2	+
31333	Одиссей	«	«	7	2	+
29669	Maresi	Германия	«	7	3	–
30889	Danuta	«	*deficiense*	7	1	+
30967	Messina	«	*nutans*	7	3	–
30973	Xanadu	«	«	7	0	+
31038	Жозефин	«	«	7	1	+
31132	Деспина	«	*deficiense*	7	1	–
31170	Калькюль	«	*nutans*	7	4	–
31192	Jenuva	«	«	7	1	+
31193	Issota	«	«	7	1	+
31242	JB Flavour	«	«	7	0	–
31245	Posada	«	«	7	1	+
30857	Astoria	Франция	«	7	4	–
31191	2033E	«	*deficiense*	7	0	–
31249	Eifel	«	*nutans*	7	0	+
31250	Pionier	«	«	7	1, 3	–
31271	Zhana	«	«	9	0	+
31332	Солист	«	«	9	1	+
22089	Белогорский (контроль)	РФ, Ленинградская обл.	*pallidum*	3	4	–

Носителями аллеля *mlo11*, обеспечивающего стабильную длительную защиту ячменя от *B. graminis*, являются 14 сортов ячменя из четырех европейских стран (Германия, Франция, Дания, Англия) (см. табл. 2, рисунок). Уровень устойчивости сортов с геном *mlo11* различен (0–2 балла в лаборатории); причиной этого может являться экспрессия других генов устойчивости, а также наличие разных аллельных вариантов *mlo11*.

Лишь четыре сорта российской селекции (к-30591, к-30844, к-30958, к-31301) устойчивы к *B. graminis* в лаборатории и поле. Образцы к-27038, к-30847, к-31045, к-31134, к-31291 слабо поражались патогеном только в поле, два сорта (к-30983, к-31289) характеризовались умеренной устойчивостью (2 балла) в ювенильной фазе (см. табл. 2). Большинство (94%) отечественных сортов сильно поражались грибом. Районированный в Северо-Западном регионе сорт 'Белогорский' восприимчив к *B. graminis.*

Скрининг по устойчивости сортов к возбудителю карликовой ржавчины проводили в полевых условиях. В 2019 г. наблюдали высокий уровень развития болезни: поражение сорта 'Белогорский' составляло 3 балла. При естественной эпифитотии устойчивыми к *P. hordei* оказа-

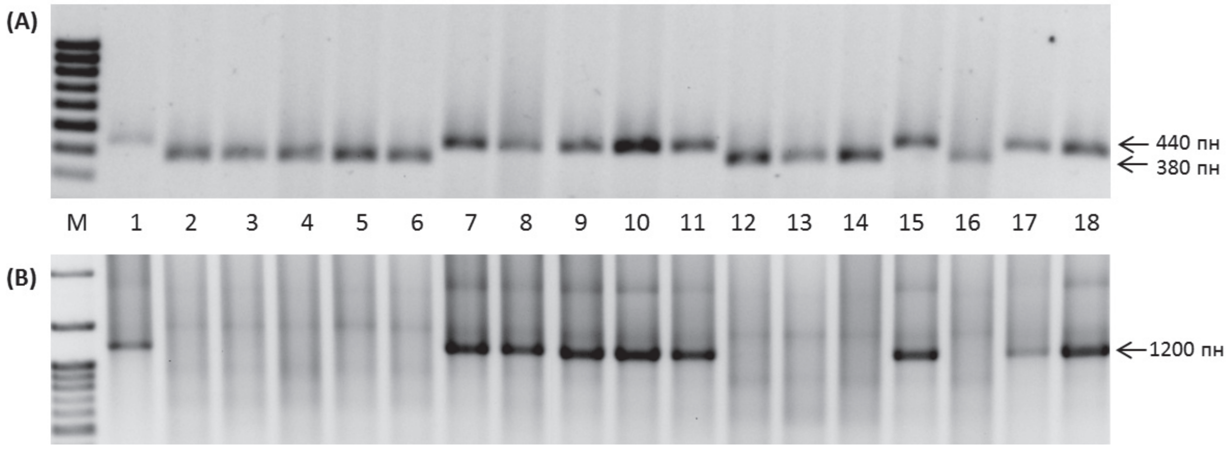


Рисунок. Продукты амплификации ДНК с использованием праймеров ADUP7-Mlo6 (A) и Mlo6-Mlo10 (B): сорта ячменя к-31169 (1), к-31191 (2), к-31247 (3), к-30591 (4), к-30844 (5), к-30981 (6), к-31038 (7), к-31241 (8), к-31245 (9), к-31249 (10), к-31271 (11), к-31289 (12), к-31301 (13), к-29914 (14), к-30973 (15), к-30983 (16), к-31323 (17), к-31332 (18)

Figure. DNA amplification products using primers ADUP7-Mlo6 (A) and Mlo6-Mlo10 (B): barley cultivars k-31169 (1), k-31191 (2), k-31247 (3), k-30591 (4), k-30844 (5), k-30981 (6), k-31038 (7), k-31241 (8), k-31245 (9), k-31249 (10), k-31271 (11), k-31289 (12), k-31301 (13), k-29914 (14), k-30973 (15), k-30983 (16), k-31323 (17), k-31332 (18)

лись два немецких сорта: 'Jenuva' (к-31192) и 'JB Flavour' (к-31242), которые также высокоустойчивы к мучнистой росе. Сорт ячменя 'Jenuva' (к-31192, Германия) является носителем аллеля *mlo11* (см. табл. 2).

При искусственном заселении сортов ячменя краснодарской популяцией обыкновенной злаковой тли резистентным (повреждение растений 3–4 балла) оказался сорт 'ST-134' (к-30553, США). Гетерогенны по устойчивости 55 изученных форм. Поврежденность отдельных растений 10 сортов составляла не более четырех баллов (табл. 3), у 45 сортов варьировала в пределах 5–8 баллов. Выделившиеся по устойчивости к *S. graminum* образцы к-30958, к-30967, к-31169 и к-31193 характеризуются также резистентностью к мучнистой росе.

Допущенные к использованию на территории РФ сорта ячменя обладают различным уровнем устойчивости к токсичным ионам алюминия, причем диапазон изменчивости признака довольно велик. Индекс длины корней варьировал в пределах от 0,2 до 0,98. Среди

Таблица 3. Сорта ячменя, выделившиеся по устойчивости к обыкновенной злаковой тле

Table 3. Barley cultivars with resistance to greenbug

№ по каталогу ВИР	Образец	Происхождение	Оценено растений	Распределение растений по баллам поврежденности, %		
				1–4	5–8	9, 10
30804	Лель	РФ, Кировская обл.	15	13,3	20,0	66,7
30958	Тонус	РФ, Ростовская обл.	41	4,9	29,3	65,8
30957	Натали	РФ, Оренбургская обл.	37	2,7	10,8	88,5
27102	Красноярский 80	РФ, Красноярский край	30	3,3	–	96,7
30968	Муссон	РФ, Приморский край	22	4,6	13,6	81,8
31171	Липень	Беларусь	33	6,1	15,1	78,8
31169	Эвергрин	Дания	16	6,3	31,2	62,5
29965	Zest	Великобритания	41	12,2	53,7	34,1
30967	Messina	Германия	17	29,4	11,8	58,8
31193	Issota	«	22	13,6	27,3	59,1
30553	ST-134	США	19	100,0	–	–
22089	Белогорский (контроль)	РФ, Ленинградская обл.	182	–	–	100

отечественных и зарубежных сортов выделено 4 неустойчивых к стрессу сорта (2,8% от числа изученных), 31 образец характеризовался высокой устойчивостью к токсичным ионам алюминия (21,7%). Самые высокие корневые индексы характерны для сортов ‘Нур’ (к-30820) и ‘Вакула’ (к-30983) отечественной селекции, которые рекомендуются для возделывания в Северо-Западном, Центральном, Волго-Вятском и Средневолжском регионах. Образцы, неустойчивые по индексу длины ростка, нами не выявлены: все изученные сорта относятся к устойчивым и высокоустойчивым формам.

Высокая устойчивость по индексу длины корня и ростка отмечена у 26 сортов ячменя, из них 8 сортов – зарубежной селекции. Все они отнесены к первой группе устойчивости (табл. 4). У российских сортов из Приморского края ‘Муссон’ (к-30968) и ‘Приморский 98’ (к-30778) отмечены самые высокие индексы длины корней и ростка. Среди сортов зарубежной селекции наиболее устойчивы к токсичным ионам алюминия образцы ‘Quench’ (к-31241, Дания) и ‘Xanadu’ (к-30973, Германия), которые несут также аллель *mlo11*, обеспечивающий длительную устойчивость к мучнистой росе.

Таблица 4. Сорта ячменя, выделившиеся по устойчивости к токсичным ионам алюминия

Table 4. Barley cultivars with resistance to toxic aluminum ions

№ по каталогу ВИР	Образец	Происхождение	Разновидность	Индекс длины	
				корня	ростка
30592	Раушан	РФ, Московская обл.	*nutans*	0,85	0,90
30981	Владимир	«	«	0,88	0,91
30804	Лель	РФ, Кировская обл.	*pallidum*	0,89	0,89
30806	Новичок	«	*nutans*	0,81	090
30883	Тандем	«	«	0,91	0,98
30971	Беркут	РФ, Самарская обл.	*medicum*	0,92	0,92
31302	Батик	«	*nutans*	0,83	0,94
30452	Задонский 8	РФ, Ростовская обл.	*medicum*	0,82	0,87
30881	Рубикон	РФ, Краснодарский край	*nutans*	0,88	0,97
30983	Вакула	РФ, Ставропольский край	*pallidum*	0,95	0,98
30990	Т 12	РФ, Оренбургская обл.	*nutans*	0,86	0,92
30919	Омский голозерный	РФ, Омская обл.	*nudum*	0,87	0,88
30977	Омский 96	«	*nutans*	0,83	0,90
27102	Красноярский 80	РФ, Красноярский край	«	0,82	0,94
31198	Буян	«	«	0,81	0,97
31118	Одон	РФ, Бурятия	«	0,85	0,90
30778	Приморский 98	РФ, Приморский край	*medicum*	0,98	0,94
30968	Муссон	«	*nutans*	0,96	0,93
31173	Талер	Беларусь	*ricotense*	0,81	0,99
30965	Гетьман	Украина	*medicum*	0,84	0,93
31094	Бадьорий	«	*nutans*	0,81	0,82
30884	Илек 9	Казахстан	*medicum*	0,83	0,97
30978	Илек 16	«	*nutans*	0,83	0,98
31241	Quench	Дания	*nutans*	0,95	0,92
30973	Xanadu	Германия	*deficiense*	0,93	0,91
31044	Марни	«	*nutans*	0,92	0,92

Заключение

Наши эксперименты показали, что сорта ячменя, допущенные к использованию на территории России, неоднородны по устойчивости к *B. graminis*, *P. hordei*, *S. graminum* и токсичным ионам алюминия. Изученная коллекция характеризуется достаточно высокой частотой форм (16,5%), защищенных не только геном *mlo11*, но и другими эффективными генами устойчивости к мучнистой росе. В то же время сорта российской селекции в подавляющем большинстве (94%) восприимчивы к *B. graminis*. Два немецких сорта 'Jenuva' (к-31192) и 'JB Flavour' (к-31242) слабо поражаются возбудителем карликовой ржавчины. Лишь один сорт ('ST-134', к-30553, США) оказался устойчивым к краснодарской популяции *S. graminum*. В группу высокоустойчивых к негативному действию алюминия по индексу длины корня и ростка вошли 10,7% сортов отечественной и 10% зарубежной селекции. Комплексной устойчивостью к мучнистой росе и токсичным ионам алюминия характеризуются сорта отечественной селекции: 'Рахат' (к-30591), 'Тонус' (к-30958), 'Новик' (к-31301); к мучнистой росе и обыкновенной злаковой тле – четыре сорта. Два образца обладают комплексной устойчивостью к вредным организмам и токсичным ионам алюминия: 'Xanadu' (к-30973) и 'Messina' (к-30967). Выделившиеся сорта ячменя рекомендованы для выращивания в различных регионах страны, обладают широким спектром изменчивости признаков и могут использоваться как доноры устойчивости в селекции.

Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0662-2019-0006 «Поиск, поддержание жизнеспособности и раскрытие потенциала наследственной изменчивости мировой коллекции зерновых и крупяных культур ВИР для развития оптимизированного генбанка и рационального использования в селекции и растениеводстве» и при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 20-016-00048).

The research was performed within the framework of the State Task according to the theme plan of VIR, Project No. 0662-2019-0006 "Search For and Viability Maintenance, 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", and supported by the Russian Foundation for Fundamental Research (Project No. 20-016-00048).

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

Bian M., Jin X., Broughton S., Zhang X.Q., Zhou G., Zhou M., Zhang G., Sun D., Li C. A new allele of acid soil tolerance gene from a malting barley variety. *BMC Genetics*. 2015;16:92. DOI: 10.1186/s12863-015-0254-4

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.

Dreiseitl A. Genes for resistance to powdery mildew in European barley cultivars registered in the Czech Republic from 2011 to 2015. *Plant Breeding*. 2017;136(3): 351-356. DOI: 10.1111/pbr.12471

Jørgensen J.H., Wolfe M. Genetics of powdery mildew resistance in barley. *Critical Reviews in Plant Sciences.* 1994;13(1):97-119. DOI: 10.1080/07352689409701910

Kavanagh P.J., Singh D., Bansal U.K., Park R.F. Inheritance and characterization of the new and rare gene *Rph25* conferring seedling resistance in *Hordeum vulgare* against *Puccinia hordei*. *Plant Breeding.* 2017;136(6):908-912. DOI: 10.1111/pbr.12535

Kusch S., Panstruga R. *mlo*-based resistance: An apparently universal "weapon" to defeat powdery mildew disease. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2017;30(3):179-189. DOI: 0.1094/MPMI-12-16-0255-CR

Loskutov I.G., Kovaleva O.N., Blinova E.V. Methodological guidelines for studying and maintaining the global collection of barley and oat (Metodicheskiye ukazaniya po izucheniyu i sokhraneniyu mirovoy kollektsii yachmenya i ovsa). St. Petersburg: VIR; 2012. [in Russian] (Лоскутов И.Г., Ковалева О.Н., Блинова Е.В. Методические указания по изучению и сохранению мировой коллекции ячменя и овса. Санкт-Петербург: ВИР; 2012).

Mains E.B., Dietz S.M. Physiologic forms of Barley mildew, *Erysiphe graminis hordei. Phytopathology.* 1930;20(3):229-239.

Minella E., Sorrells M.E. Inheritance and chromosome location of *Alp*, a gene controlling aluminum tolerance in 'Dayton' barley. *Plant Breeding.* 1997;116(5):465-469. DOI: 10.1111/j.1439-0523.1997.tb01032.x

Navakode S., Weidner A., Varshney R.K., Lohwasser U., Scholz U., Börner A. A QTL analysis of aluminium tolerance in barley, using gene-based markers. *Cereal Research Communications*. 2009;37:531-540. DOI: 10.1556/CRC.37.2009.4.6

Panda S.K., Baluška F., Matsumoto H. Aluminum stress signaling in plants. *Plant Signaling and Behavior.* 2009;4(7):592-597. DOI: 10.4161/psb.4.7.8903

Park R.F., Golegaonkar P.G., Derevnina L., Sandhu K.S., Karaoglu H., Elmansour H.M. et al. Leaf rust of cultivated barley: pathology and control. *Annual Review of Phytopathology*. 2015;53:565-589. DOI: 10.1146/annurev-phyto-080614-120324

Porter D.R., Burd J.D., Mornhinweg D.W. Differentiating greenbug resistance genes in barley. *Euphytica*. 2007;153(1-2):11-14. DOI: 10.1007/s10681-006-9193-5

Piffanelli P., Ramsay L., Waugh R., Benabdelmouna A., D'Hont A., Hollricher K. et al. A barley cultivation-associated polymorphism conveys resistance to powdery mildew. *Nature*. 2004;430(7002):887-891. DOI: 10.1038/nature02781

Radchenko E.E. Cereal aphids (Zlakovye tli). In: *The study of the genetic resources of cereal crops for resistance to harmful organisms. Guidelines* (*Izucheniye geneticheskikh resursov zernovykh kultur po ustoychivosti k vrednym organizmam. Metodicheskoye posobiye*). Moscow: Rosselkhozakademia; 2008. p.214-257 [in Russian] (Радченко Е.Е. Злаковые тли. В кн.: *Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам. Методическое пособие*. Москва: Россельхозакадемия; 2008. С.214-257).

Reinstädler A., Müller J., Jerzy H., Czembor J.H., Piffanelli P., Panstruga R. Novel induced *mlo* mutant alleles in combination with site-directed mutagenesis reveal functionally important domains in the heptahelical barley *Mlo* protein. *BMC Plant Biology*. 2010;10(1):31. DOI: 10.1186/1471-2229-10-31

Rigin B.V., Yakovleva O.V. Genetic analysis of toxic ion tolerance in barley. *Russian Journal of Genetics*. 2006;42(3):301-305.

Schweissing F.C., Wilde G. Temperature and plant nutrient effects on resistance of seedling sorghum to the greenbug. *Journal Economic Entomology*. 1979;72(1):20-23. DOI: 10.1093/jee/72.1.20

Seeholzer S. Isolation and characterization of new R-protein variants encoded at the barley *Mla* locus that specify resistance against the fungus powdery mildew. University of Zurich, Faculty of Science; 2009. DOI: 10.5167/uzh-31283

Wang J.P., Raman H., Zhang G.P., Mendham N., Zhou M.X. Aluminium tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.): physiological mechanisms, genetics and screening methods. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*. 2006;7(10):769-787. DOI: 10.1631/jzus.2006.B0769

Wu L., Yu J., Shen Q., Huang L., Dezhi W., Zhang G. Identification of microRNAs in response to aluminum stress in the roots of Tibetan wild barley and cultivated barley. *BMC Genomics*. 2018;19:560. DOI: 10.1186/s12864-018-4953-x

Yakovleva O.V. Phytotoxicity of aluminum ions. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2018;179(3):315-331. [in Russian] (Яковлева О.В. Фитотоксичность ионов алюминия. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2018;179(3):315-331). DOI: 10.30901/2227-8834-2018-3-315-331

Yakovleva O.V., Kapeshinsky A.M., Kovaleva O.N. Aluminium toxic ions tolerance in cultivated and wild barley. *Bulletin Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2009;165:51-54. [in Russian] (Яковлева О.В., Капешинский А.М., Ковалева О.Н. Устойчивость культурного и дикого ячменя к действию токсичных ионов алюминия. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции.* 2009;165:51-54).

Yakovleva O.V., Kovaleva O.N. Catalogue of the VIR Global Collection. Issue 824. Barley. Characteristics of barley accessions for resistance to toxic aluminum ions (H^+ + Al^{3+}) (Yachmen. Kharakteristika obraztsov yachmenya po ustoychivosti k toksichnym ionam alyuminiya [H^+ + Al^{3+}]). St. Petersburg: VIR; 2015. [in Russian] (Яковлева О.В., Ковалева О.Н. Каталог мировой коллекции ВИР. Выпуск 824. Ячмень. Характеристика образцов ячменя по устойчивости к токсичным ионам алюминия (H^+ + Al^{3+}). Санкт-Петербург: ВИР; 2015).

Yu X., Kong H.Y., Meiyalaghan V., Casonato S., Chng S., Jones E.E. et al. Genetic mapping of a barley leaf rust resistance gene *Rph26* introgressed from *Hordeum bulbosum. Theoretical and Applied Genetics*. 2018;131:2567-2580. DOI: 10.1007/s00122-018-3173-8

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

Абдуллаев Р.А., Баташева Б.А., Алпатьева Н.В., Чумаков М.А., Радченко Е.Е., Ковалева О.Н., Яковлева О.В. Устойчивость допущенных к использованию в России сортов ячменя к вредным организмам и токсичным ионам алюминия. Труды по прикладнойботанике,генетикеиселекции.2020;181(3):120-127. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-120-127

Abdullaev R.A., Batasheva B.A., Alpatieva N.V., Chumakov M.A., Radchenko E.E., Kovaleva O.N., Yakovleva O.V. Resistance of barley cultivars approved for use in Russia to harmful organisms and toxic aluminum ions. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(3):120-127. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-120-127

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/10.30901/2227-8834-2020-3-120-127

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
Abdullaev R.A. https://orcid.org/0000-0003-1021-7951
Batasheva B.A. https://orcid.org/0000-0002-2266-281X
Alpatieva N.V. https://orcid.org/0000-0002-5531-2728
Chumakov M.A. https://orcid.org/0000-0001-6995-1742
Radchenko E.E. https://orcid.org/0000-0002-3019-0306
Kovaleva O.N. https://orcid.org/0000-0002-3990-6526
Yakovleva O.V. https://orcid.org/0000-0002-6537-0868

Выделение источников устойчивости к фитофторозу, ризоктониозу и других хозяйственно ценных признаков среди межвидовых гибридов картофеля

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-128-134
УДК 631.527:575.22
Поступление/Received: 14.05.2020
Принято/Accepted: 21.09.2020

Identifying sources of resistance to late blight and black scurf, and other economically useful traits among interspecific potato hybrids

З. З. ЕВДОКИМОВА*, М. В. КАЛАШНИК

Ленинградский научно-исследовательский институт сельского хозяйства «Белогорка» – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр картофеля имени А.Г. Лорха»,
188338 Россия, Ленинградская область, Гатчинский район, д. Белогорка, ул. Институтская, 1
** lenniish@mail.ru*

Z. Z. EVDOKIMOVA*, M. V. KALASHNIK

Leningrad Research Institute for Agriculture "Belogorka", branch of the A.G. Lorch Russian Potato Research Center,
1 Institutskaya St., Belogorka,
Gatchina District,
Leningrad Province 188338, Russia
** lenniish@mail.ru*

Актуальность В статье приведены результаты четырехлетнего (2016–2019 гг.) изучения гибридного материала картофеля из питомников предварительного испытания и питомника второго клубневого поколения по устойчивости к *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary и *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn в условиях Ленинградской области. Выделены исходные формы с комплексом хозяйственно ценных признаков. для использования в дальнейшей селекционной работе. **Материалы и методы.** Материалом для изучения служили межвидовые гибриды, созданные с использованием видов: *Solanum vernei* Bitt. et Wittm., *S. megistacrolobum* Bitt., *S. chacoense* Bitt., *S. demissum* Lindl., *S. verrucosum* Schelechtd., *S. stoloniferum* Schlechtd., *S. polytrichon* Rydb., *S. andigenum* Yuz. et Buk., *S. rybinii* Yuz. et Buk., *S. tuberosum* Lindl. Исследования проводились в соответствии с методикой по технологии селекционного процесса картофеля. **Результаты и выводы.** Установлена возможность отбора на естественном жестком инфекционном фоне *P. infestans* и *R. solani* генотипов с высокой и средней степенью устойчивости ботвы и клубней. В питомнике предварительного испытания выделено от 4,0 до 62,0% образцов с высокой устойчивостью к фитофторозу ботвы и от 21,6 до 58,0% с устойчивостью клубней. Средний балл по устойчивости к ризоктониозу в питомнике предварительного испытания составлял от 6,3 до 7,6 баллов (шкала 9 – 1 балл), а количество высокоустойчивых образцов находилось в пределах 25,9–70,7%. В питомнике второго клубневого поколения средний балл устойчивости по годам колебался от 6,3 до 7,8, а число высокоустойчивых гибридов – от 27,0 до 87,1%. Установлена возможность получения исходных форм с высокой степенью устойчивости к фитофторозу и ризоктониозу. Выделенные по хозяйственно ценным признакам образцы характеризовались повышенной продуктивностью (314–429 ц/га), высокой товарностью клубней (89–98%), содержанием сухого вещества (16,6–19,5%).

Ключевые слова: *Solanum* L., *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn., агрономические качества.

Background. This publication presents the results of a four-year (2016–2019) study undertaken to assess potato hybrids from the nurseries of preliminary tests and the nursery of the second tuber generation for their resistance to *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary and *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn in the environments of Leningrad Province. Potato forms with a set of economically useful traits were identified as promising source material for further breeding. **Materials and methods.** The study covered the interspecific hybrids developed on the basis of the following species: *Solanum vernei* Bitt. et Wittm., *S. megistacrolobum* Bitt., *S. chacoense* Bitt., *S. demissum* Lindl., *S. verrucosum* Schelechtd., *S. stoloniferum* Schlechtd., *S. polytrichon* Rydb., *S. andigenum* Yuz. et Buk., *S. rybinii* Yuz. et Buk., and *S. tuberosum* Lindl. Late blight and black scurf resistance tests were performed using the methods approved for the potato selection technology. **Results and conclusions.** The possibility to select potato genotypes with high and medium resistance of their tops and tubers was ascertained under severe natural infection with *P. infestans* and *R. solani*. In the preliminary test nursery, from 4.0 to 62.0% of the tested accessions demonstrated high plant top resistance to late blight, and from 21.6 to 58.0% possessed tuber resistance. The analysis of resistance to black scurf showed that the average score for several years in the preliminary test nursery ranged from 6.3 to 7.6 points (the scale from 9 down to 1), while the percentage of highly resistant accessions was in the range of 25.9–70.7%. In the nursery of the second tuber generation, the average resistance across the years of study varied from 6.3 to 7.8 points, with the percentage of highly resistant hybrids ranging from 27.0 to 87.1%. The selected hybrids were distinguished by their increased productivity (31.4–42.9 t/ha), high marketability of tubers (89–98%), and dry matter content (16.6–19.5%). Source material with a set of economically useful features promising for breeding was identified.

Key words: *Solanum* L., *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn, agronomic qualities.

Введение

В настоящее время при защите картофеля от фитофтороза и ризоктониоза основное внимание уделяется химическим средствам, использование которых имеет ряд серьезных недостатков, в том числе уничтожение полезной микрофлоры и появление более агрессивных штаммов патогена (Popkova, 1972). В системе комплексной защиты картофеля от болезней наиболее эффективным и экологически безопасным методом является выращивание сортов с высокой полевой устойчивостью. Это дает возможность избежать раннего и массового распространения болезни, сократить число химических обработок, затормозить расообразовательный процесс возбудителя (Cherednichenko, Podgaetsky, 2003). В практической селекционной работе источниками устойчивости к ряду болезней являются сложные межвидовые гибриды, выведенные с участием дикорастущих видов картофеля. Поиск резистентных к данным болезням генотипов среди уже созданных селекционных клонов, обладающих многими ценными признаками, будет способствовать сокращению временных затрат на создание отечественных сортов, устойчивых к болезням. По мнению Yashina et al. (2007), селекционная ценность любого генетического источника определяется по эффективности его использования, то есть числа сортов, выведенных с его участием. Получение таких данных требует длительного времени, начиная от момента гибридизации и до конца селекционного цикла. В нашей работе рассмотрены итоги четырехлетних исследований, основной задачей которых было выделение генетических источников для селекции на устойчивость к фитофторозу и ризоктониозу. Для выделения источников устойчивости использовали уже созданные сложные межвидовые гибриды с участием различных видов, обладающих рядом других ценных признаков.

Наибольшую угрозу на Северо-Западе РФ представляет фитофтороз, который отличается особой вредоносностью. По данным мониторинга популяций *Phytophtora infestans* (Mont.) de Bary, в Ленинградской области, выделенные изоляты характеризуются сложным составом генов вирулентности, наличием обоих типов совместимости (A1 и A2) – факторами, способствующими созданию высокого инфекционного фона при благоприятных погодных условиях (Zoteyeva et al., 2017). Такие условия практически ежегодно отмечаются на территориях Северо-Запада РФ, где проводили опыты. Высокий инфекционный фон гарантирует достоверность результатов полевой оценки опытных образцов. Основная роль в защите сорта принадлежит полевому типу устойчивости (Shakleina, 2018). Гибриды, устойчивые в полевых условиях в годы эпифитотийного развития фитофтороза, долго не теряют этих свойств (Kiselev, 2018).

Для улучшения хозяйственно ценных характеристик клубней проводят беккроссы, используя сорта и перспективные клоны *Solanum tuberosum* L. Многие селекционные клоны, полученные от межвидовых скрещиваний, известны как источники чрезвычайной устойчивости к *P. infestans* (Jansky, 2006). Не все гибриды, полученные от скрещиваний с дикими видами, способны к последующим успешным скрещиваниям с *S. tuberosum*. Такие проблемы могут быть вызваны различными факторами, в том числе несоответствием числа хромосом (Jansky, 2006). Использованные в наших исследованиях межвидовые гибриды получены с участием видов S. *demissum* Lindl., *S. stoloniferum* Schelechtd. и *S. verrucosum* Schelechtd., которые характеризуются частой встречаемостью растений культурного типа с устойчивостью к фитофторозу и хорошими агрономическими характеристиками клубней. Ценность использованных видов как носителей высокой устойчивости к фитофторозу подтверждается исследованиями, проведенными в полевых условиях Северо-Запада РФ, где нередки эпифитотии *P. infestans* (Zoteyeva, 2019). Полевые испытания в условиях, благоприятных для развития возбудителя болезни, являются неотъемлемым звеном процесса селекции на устойчивость к фитофторозу.

Ризоктониоз – одна из болезней, наносящих большой ущерб урожаю, которая распространена практически во всех регионах возделывания картофеля (Keizer et al., 2012). Возбудитель ризоктонии *Rhizoctonia solani* активен на протяжении всех стадий онтогенеза картофеля (Ivanyuk et al., 2003). Патоген поражает как подземные, так и надземные органы растения. В зависимости от погодных условий, ежегодные потери урожая картофеля от ризоктониоза достигают 10–40%; эти показатели зависят от механического состава почв, наличия инфекции в семенном материале, а также от сорта и уровня агротехники (Woodhall et al., 2007). Симптомы болезни значительно снижают товарные качества клубней, что ведет к финансовым потерям. Среди имеющегося в коллекциях исходного материала отсутствуют сорта и образцы, иммунные к данному заболеванию. При этом встречаются исходные формы, слабовосприимчивые к патогену.

Специфика вышеперечисленных болезней в значительной мере обусловлена их высокими адаптационными качествами, наличием активных сапрофитных стадий и способностью формировать покоящиеся структуры (Hyutti, 2019). Природно-климатические условия Северо-Запада РФ способствуют практически ежегодному поражению как фитофторозом, так и ризоктониозом, требующими определенной влажности почвы и относительно низких температур. В связи с вышеизложенным создание исходного устойчивого к патогенам материала и на его основе новых сортов картофеля с комплексом хозяйственно ценных признаков поможет реализовать потенциальные возможности урожайности создаваемых сортов и сохранность урожая.

Сорт является главным звеном адаптивной технологии возделывания картофеля, роль которого в современной фитосанитарной обстановке постоянно возрастает (Bolotskikh, Prihodko, 1999). В Ленинградском НИИСХ «Белогорка» в течение многих лет ведется большая работа по созданию, испытанию и внедрению в производство высокопродуктивных скороспелых сортов картофеля, обладающих хорошим качеством клубней, устойчивых к различным патогенам.

В наших исследованиях была *поставлена цель* изучить сложные межвидовые гибриды картофеля, полученные с участием дикорастущих и культурных видов, по устойчивости к *P. infestans* и *R. solani* и выделить гибриды, сочетающие устойчивость с комплексом хозяйственно ценных признаков. Актуальность исследований заключается в выявлении гибридов, обладающих устойчивостью к фитофторозу и ризоктониозу и другими хозяйственно ценными признаками.

Материалы и методы

Материалом для изучения служили межвидовые гибриды, созданные с использованием видов: *S. vernei*

Bitt. et Wittm., *S. megistaracolobum* Bitt., *S. chacoense* Bitt., *S. demissum* Lindl., *S. verrucosum* Schelechtd., *S. stoloniferum* Schlechtd., *S. polytrichon* Rydb., *S. andigenum* Yuz. et Buk., *S. rybinii* Yuz. et Buk., *S. tuberosum* L.

Исследования проводились в соответствии с методикой по технологии селекционного процесса картофеля (Simakov et al., 2006). Анализ селекционного материала на устойчивость к фитофторозу и ризоктониозу проводился в соответствии с методическими указаниями по испытанию сортов и гибридов картофеля на устойчивость к комплексу болезней (Polozhenets, 2011). Степень поражения фитофторозом и ризоктониозом клубней оценивалась в баллах:

– 9 баллов – отсутствует поражение;
– 8 баллов – единичное поражение;
– 7 баллов – слабое поражение;
– 6 баллов – среднее поражение;
– 5 баллов и ниже – сильное поражение.

Учет развития фитофтороза на ботве проводился в динамике с момента появления патогена и с интервалом в десять дней. В таблице 1 приведены данные по устойчивости к фитофторозу ботвы ко времени уборки (конец первой декады – начало второй декады августа). Анализ клубней на устойчивость к фитофторозу и ризоктониозу осуществлялся через две – три недели после уборки.

Оценка по устойчивости селекционных клонов к болезням проводилась согласно Международному классификатору СЭВ (Bukasov et al., 1984). В качестве стандартов использовались районированные сорта ранней группы спелости (сорт 'Ломоносовский'), среднеранней группы спелости (сорт 'Невский'), среднеспелой группы спелости (сорт 'Аврора').

Результаты и обсуждение

Погодные условия в годы испытаний существенно различались как по количеству осадков, так и по температуре. Наиболее благоприятными для распространения инфекции (обильные осадки и пониженные температуры в период вегетации) были 2016, 2017 годы, когда развитие фитофтороза носило эпифитотийный характер. В 2018 г. симптомы фитофтороза на ботве появились во второй декаде июля, а к первой декаде августа поражение большинства растений оценивалось как умеренное. Ко второй декаде августа произошло усиление степени поражения растений. В 2019 г. появление симптомов фитофтороза на листьях картофеля отмечено 20–25 июля, а к началу августа поражение растений фитофторозом оценивалось баллами от 4 до 6. Аналогичные результаты по устойчивости растений картофеля получены как в питомнике предварительного испытания, так и в питомнике второго клубневого поколения. В таблице 1 приведены результаты анализа гибридных клонов по устойчивости к фитофторозу и ризоктониозу.

Таблица 1. Результаты оценки межвидовых гибридов картофеля по устойчивости к фитофторозу и ризоктониозу (2016–2019 гг.)

Table 1. The results of the assessment of interspecific potato hybrids for their resistance to late blight and black scurf (2016–2019)

Селекционные питомники	Год исследования	Число образцов	Устойчивость к фитофторозу, балл 9 – 1				Устойчивость клубней к ризоктониозу, балл 9 – 1	
			ботвы (среднее)	% гибридов с устойчивостью 7–9 баллов	клубней (среднее)	% гибридов с устойчивостью 8–9 баллов	средний	% гибридов с устойчивостью 8–9 баллов
ПСИ	2016	54	2,8	0	7,9	30,9	7,3	63,8
	2017	45	3,3	4,0	8,2	44,4	7,6	70,7
	2018	57	5,8	19,0	8,4	58,0	6,3	25,9
	2019	52	6,3	62,0	7,2	21,6	7,2	48,0
III СП	2016	194	2,5	3,2	8,3	62,7	7,8	87,1
	2017	140	4,6	20,0	5,7	34,4	6,3	27,0
	2018	82	6,0	26,5	7,9	87,5	6,8	46,3
	2019	149	5,2	40,3	8,3	72,6	7,3	52,6

Примечание: IIСИ – предварительное сортоиспытание, III СП – третий селекционный питомник
Note: IIСИ – preliminary variety testing; III СП – the third breeding nursery

Оценка селекционного материала по устойчивости к фитофторозу осуществлялась в динамике с интервалом в 10 дней, результаты устойчивости ботвы в период уборки приведены в таблице 1. Полученные данные свидетельствуют о том, что развитие симптомов болезни у большинства образцов шло замедленными темпами. Это позволяет предположить наличие у них защитных механизмов, продлевающих период инкубации патогена. Средний балл устойчивости ботвы ко времени уборки в 2016, 2017 г. был низким – 2,8–3,3, в 2018, 2019 г. – 5,8–6,3 балла. Несмотря на то что в среднем получены невысокие значения средних баллов устойчивости, выделена часть высокоустойчивых клонов. В селекционном питомнике предварительного испытания в 2017–2019 гг. выделено 4,0–62,0% гибридов с высокой устойчивостью к фитофторозу ботвы, в селекционном питомнике третьего года число таких образцов составило 3,2–40,3%.

По данным анализа показателей устойчивости клубней к фитофторозу, проведенного спустя месяц после уборки, средние баллы отражали довольно высокий уровень устойчивости: 7,2–8,4 балла в питомнике предварительного испытания и 5,7–8,3 балла в питомнике второго клубневого поколения. С высокой устойчивостью клубней к фитофторозу (8–9 баллов) выделено от 21,6 до 58,0% гибридов в питомнике предварительного испытания; в питомнике второго клубневого поколения количество таких гибридов составило 34,4–87,5%.

Развитие ризоктониоза в наших условиях наблюдается ежегодно из-за повышенной влажности и низких температур почвы в период посадки. Такие условия являются оптимальными для развития болезни, но для роста и развития растений картофеля они недостаточны. Ризоктониоз относится к почвенным патогенам, который поражает ростки и клубни, находящиеся в почве. Во второй половине вегетации на нижней части стебля у поверхности почвы образуется половая стадия гриба «белая ножка». Она представляет собой плотный войлочный налет. Созревшие к этому времени споры разносятся ветром и дождем и, попадая в почву, образуют мицелий, заражая клубни (Hyutti, Lazarev, 2019); на клубнях образуются склероции и некрозы. Наиболее сильное поражение клубней ризоктониозом в питомнике предварительного испытания отмечено в 2018 г., когда средний балл устойчивости составил 6,3, а число устойчивых образцов – 25,9%. В третьем селекционном питомнике в 2017 г. получены худшие результаты по устойчивости к ризоктониозу – средний балл составил 6,3, а количество высокоустойчивых клонов – 27,0%.

Таким образом, наличие в поле высокого инфекционного фона *P. infestans*, способствующего поражению ботвы, позволяет осуществлять отбор генотипов, обладающих высокой и умеренной степенью устойчивости. Более высокий уровень устойчивости клубней в сравнении с устойчивостью ботвы отмечен как в питомнике предварительного испытания, так и в третьем селекционном питомнике. В различных агроэкологических и фитосанитарных условиях выделено значительное число образцов с высокой устойчивостью к ризоктониозу в питомниках предварительного испытания и второго клубневого поколения – 25,9–87,1%. Полученные данные свидетельствуют о возможности выявления клонов среди сложных межвидовых гибридов с устойчивостью к фитофторозу ботвы и клубней, а также ризоктониозу (Zoteyeva et al., 2017; Antonova et al., 2018).

Роль сортов картофеля с высокой степенью устойчивости, которые могут противостоять постоянно варьирующей агрессивности патогенов, в последние годы возрастает (Shakleina, 2018). Созданные на основе дикорастущих и культурных видов картофеля межвидовые гибриды являются ценными источниками хозяйственно значимых признаков и позволяют в более короткие сроки создавать новые сорта. Выведенные с участием различных видов картофеля гибриды отличаются повышенной продуктивностью, выровненными гнездами и клубнями в гнезде, обладают хорошей формой клубня, поверхностными глазками и могут быть использованы в качестве источников хозяйственно ценных признаков в селекции (табл. 2).

Таблица 2. Характеристика перспективных межвидовых гибридов картофеля по основным хозяйственно ценным признакам (2016–2019 гг.)

Table 2. Characterization of promising interspecific potato hybrids by their main economically useful traits (2016–2019)

Селекционный номер	Виды, участвующие в происхождении	Продуктивность товарных клубней, ц/га	Содержание сухого вещества, %	Устойчивость к		
				фитофторозу (балл 9 – 1)		ризоктониозу (балл 9 – 1)
				ботвы, (I декада августа)	клубней	
Невский, st. (стандарт)		293,8	15,1	4,0	7,0	8,2
511/7	*S. demissum*, *S. stoloniferum*, *S. vernei*, *S. andigenum*, *S. tuberosum*	314,0	17,2	5,8	8,5	7,7
1011/3	*S. demissum*, *S. stoloniferum*, *S. andigenum*, *S. tuberosum*	335,5	18,3	4,3	7,8	8,6

Таблица 2. Продолжение
Table 2. Continued

Селекционный номер	Виды, участвующие в происхождении	Продуктивность товарных клубней, ц/га	Содержание сухого вещества, %	Устойчивость к		
				фитофторозу (балл 9 – 1)		ризоктониозу (балл 9 – 1)
				ботвы, (I декада августа)	клубней	
113/3	*S. demissum*, *S. chacoense*, *S. stoloniferum*, *S. rybinii*, *S. tuberosum*	358,5	17,2	5,8	8,5	7,9
113/5	*S. demissum*, *S. chacoense*, *S. stoloniferum*, *S. rybinii*, *S. tuberosum*	341,0	16,1	4,8	7,0	7,7
414/1	*S. demissum*, *S. andigenum*, *S. acaule*, *S. tuberosum*	403,7	16,6	5,7	7,0	7,3
914/1	*S. demissum*, *S. stoloniferum*, *S. megistacrolobum*, *S. rybinii*, *S. tuberosum*	358,2	18,7	7,3	8,0	7,2
1414/1	*S. demissum*, *S. verrucosum*, *S. tuberosum*	429,3	18,4	8,0	8,8	7,2
114/9	*S. demissum*, *S. chacoense*, *S. andigenum*, *S. tuberosum*	379,3	17,0	6,0	6,7	6,8
415/6	*S. demissum*, *S. vernei*, *S. chacoense*, *S. stoloniferum*, *S. tuberosum*	324,5	19,5	6,5	8,5	8,5

Данные оценки сложных межвидовых гибридов картофеля по продуктивности, товарности клубней, содержанию сухого вещества, устойчивости к фитофторозу ботвы и клубней, а также клубней к ризоктониозу позволяют отнести их к перспективным исходным формам. Наличие в их происхождении различных видов позволяет выделять гибриды с комплексом хозяйственно ценных признаков, устойчивые к фитофторозу и ризоктониозу. Данные по устойчивости ботвы к фитофторозу показали, что низкий средний балл на уровне стандарта ‘Невский’ был лишь у гибридов 1011/3 и 113/5. Другие гибриды за четыре года исследований проявили среднюю и высокую степень устойчивости (5,7–8,0 баллов). Средним уровнем устойчивости ботвы характеризовались гибриды: 511/7 (5,8 балла), 113/3 (5,8 балла), 414/1 (5,7 балла), 914/2 (6,3 балла), 114/9 (6,0 баллов). Анализ устойчивости клубней позволил выделить только один гибрид со средней степенью устойчивости (914/2), остальные характеризовались высокой устойчивостью. Среди них: 511/7, 1011/3, 113/3, 914/1, 1414/1, 415/6 (8–9 баллов). Высокой степенью устойчивостью ботвы и клубней обладали гибриды 914/1, 1414/1.

Анализ устойчивости гибридов к ризоктониозу позволил установить практически у всех представленных образцов единичное или слабое поражение грибом (6,8–8,6 баллов) (см. табл. 2).

По продуктивности товарных клубней и содержанию сухого вещества все представленные гибриды существенно превысили стандарт на 20–136 ц/га и 1,0–4,4% соответственно. На основании полученных данных выделены перспективные генотипы, обладающие наряду с устойчивостью к фитофторозу и ризоктониозу высокой продуктивностью товарных клубней (314–429 ц/га) и содержанием сухого вещества (16,1–19,5%). Они имеют практическую селекционную ценность и могут быть использованы в качестве исходного материала в дальнейшей работе.

Заключение

В Ленинградском НИИСХ «Белогорка» – филиале ФГБНУ «ФИЦ картофеля имени А.Г. Лорха» накоплен большой опыт по созданию скороспелых сортов картофеля, обладающих высокой продуктивностью, хорошим качеством клубней, устойчивостью к наиболее распространенным и вредоносным заболеваниям.

В полевых условиях на естественном инфекционном фоне в 2016–2019 гг. изучены межвидовые гибриды из питомников предварительного испытания и второго клубневого поколения по устойчивости к фитофторозу ботвы и клубней, ризоктониозу и отобраны перспективные формы.

На основании полученных результатов выделены гибриды картофеля с устойчивостью к болезням, высокой товарной продуктивностью, хорошим качеством клубней, которые могут быть использованы в практической селекции.

Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану Ленинградского НИИСХ «Белогорка» – филиала ФГБНУ «ФИЦ картофеля имени А.Г. Лорха» по проекту № 0672-2019-0011 «Фундаментальные основы управления селекционным процессом по созданию новых генотипов растений с высокими хозяйственно ценными признаками продуктивности, устойчивости к био- и абиострессорам и получение новых знаний по агротехнологии выращивания получаемого оригинального семенного материала сельскохозяйственных культур на основе современных методов диагностики и защиты растений, обеспечивающих получение высококачественного семенного материала для условий Северо-Запада России».

The work was carried out within the framework of the State Task according to the theme plan of Leningrad Research Institute of Agriculture "Belogorka", branch of the A.G. Lorch Russian Potato Research Center, Project No. 0672-2019-0011 "Fundamental principles of breeding process management in the development of plant genotypes with economically useful traits of high productivity, resistance to bio- and abiostressors, and obtaining new knowledge on agricultural practices to produce original seed material by modern plant diagnostics and protection methods that secure the yield of high-quality seeds in the environments of the Russian Northwest".

References/Литература

Antonova O.Y., Klimenko N.S., Evdokimova Z.Z., Kostina L.I., Gavrilenko T.A., Finding *RB/Rpi-blb1/Rpi-sto1*-like sequences in conventionally bred potato varieties. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2018;22(6):693-702. DOI: 10.18699/VJ18.412

Bolotskikh A.S., Prihodko V.M. The variety is the main link in adaptive technology (Sort – glavnoye zveno adaptivnoy tekhnologii). *Potato and Vegetables.* 1999;(5):26. [in Russian] (Болотских А.С., Приходько В.М. Сорт – главное звено адаптивной технологии. *Картофель и овощи.* 1999;(5):26).

Bukasov S., Budin K., Kameraz A., Lekhnovich V., Kostina L., Bavyko N., Korneychuk V., Zadina J., Vidner I., Major M., Bareš I., Odegnal V., Baranek N. International COMECON list of descriptors for potato species of the section *Tuberarium* (Dun.) Buk., genus *Solanum* L. (Mezhdunarodny klassifikator SEV vidov kartofelya sektsii *Tuberarium* (Dun.) Buk. roda *Solanum* L.). Leningrad: VIR; 1984. [in Russian] (Букасов С., Будин К., Камераз А., Лехнович В., Костина Л., Бавыко Н., Корнейчук В., Задина Й., Виднер И., Майор М., Бареш И., Одегнал В., Баранек Н. Международный классификатор СЭВ видов картофеля секции *Tuberarium* (Dun.) Buk. рода *Solanum* L. Ленинград: ВИР; 1984).

Cherednichenko L.N. Podgaetsky A.A. On the possibility of creating the initial late blight resistant material of potatoes (O vozmozhnosti sozdaniya iskhodnogo fitoftoroustoychivogo materiala kartofelya). In: S.A. Bonadysev (ed.). *Proceedings of the International Scientific Conference dedicated to the 75th Anniversary of the Potato Production Institute of the National Academy of Sciences of Belarus. Pt. 1* (*Materialy mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii, posvyashchennoy 75-letiyu instituta kartofelevodstva Natsionalnoy akademii nauk Belarusi. Ch. 1*). Minsk; 2003. p.221-227. [in Russian] (Чередниченко Л.Н. Подгаецкий А.А. О возможности создания исходного фитофтороустойчивого материала картофеля. В кн: *Материалы международной научной конференции, посвященной 75-летию института картофелеводства Национальной академии наук Беларуси. Ч. 1* / под ред. С.А. Бонадысева. Минск; 2003. С.221-227).

Hyutti A.V., Lazarev A.M. Potato black scurf: we are fully equipped (Rizoktonioz kartofelya: vstrechayem vo vseoruzhii). *Selskokhozyaystvennye vesti = Agricultural News.* 2019;1(116):10-11. [in Russian] (Хютти А.В., Лазарев А.М., Ризоктониоз картофеля: встречаем во всеоружии. *Сельскохозяйственные вести.* 2019;(1):10-11).

Ivanyuk V.G., Banadysev S.A., Zhuromsky G.K. Protecting potatoes from diseases, pests and weeds (Zashchita kartofelya ot bolezney, vrediteley i sornyakov). Minsk: RUP BelNII Potato-growing; 2003. [in Russian] (Иванюк В.Г., Банадысев С.А., Журомский Г.К. Защита картофеля от болезней, вредителей и сорняков. Минск: РУП «БелНИИ Картофелеводство»; 2003).

Jansky S. Overcoming hybridization barriers in potato. *Plant Breeding.* 2006;125(1):1-12. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2006.01178.x

Keizer A., Häberli M., Stamp P. Quality deficiencies on potato (*Solanum tuberosum L.*) tubers caused by *Rhizoctonia solani*, wireworms (*Agriotes* ssp.) and slugs (*Deroceras reticulatum*, *Arion hortensis*) in different farming systems. *Field Crops Research.* 2012;128:147-155. DOI: 10.1016/j.fcr.2012.01.004

Kiselev E.P. The creation of potato varieties for energy saving technology of potato widerow cultivation in the Far East. *Far East Agrarian Bulletin.* 2018;3(47):25-36. [in Russian] (Киселев Е.П. Создание сортов картофеля для энергосберегающей широкорядной технологии возделывания картофеля на Дальнем Востоке. *Дальневосточный аграрный вестник.* 2018;3(47):25-36).

Polozhenets V.M. Methodology for testing potato varieties and hybrids for resistance to a complex of diseases (Metodologiya ispytaniya sortov i gibridov kartofelya na ustoychivost k kompleksu bolezney). In: *Potato pro-*

duction: a collection of scientific papers. Proceedings of the scientific and practical conference and coordination meeting 'Current trends and prospects of potato breeding and seed production" dedicated to the 80th anniversary of the A.G. Lorch Research Institute of Potato Farming (*Kartofelevodstvo: sbornik nauchnykh trudov. Materialy nauchno-prakticheskoy konferentsii i koordinatsionnogo soveshchaniya "Sovremennye tendentsii i perspektivy razvitiya selektsii i semenovodstva kartofelya" [k 80-letiyu VNIIKKh]*). Korenevo, Moscow Provknce; 2011. p.240-247. [in Russian] (Положенец В.М. Методология испытания сортов и гибридов картофеля на устойчивость к комплексу болезней. В кн. *Картофелеводство: сборник научных трудов. Материалы научно-практической конференции и координационного совещания «Современные тенденции и перспективы развития селекции и семеноводства картофеля» (к 80-летию ВНИИКХ)*. Коренево, Московская обл.; 2011. С.240-247).

Popkova K.V. Potato late blight (Fitoftoroz kartofelya). Moscow: Kolos; 1972. [in Russian] (Попкова К.В. Фитофтороз картофеля. Москва: Колос; 1972).

Shakleina N.A. Field (horizontal) resistance of potato varieties to buck eye rot in conditions of Sakhalin. *International Research Journal*. 2018;9(75):45-48. [in Russian] (Шаклеина Н.А. Полевая (горизонтальная) устойчивость сортов картофеля к фитофторозу в условиях Сахалина. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2018;9(75):45-48). DOI: 10.23670/IRJ.2018.75.9.032

Simakov E.A., Sklyarova N.P., Yashina I.M. (comp.). Methodological guidelines for potato breeding process technology (Metodicheskiye ukazaniya po tekhnologii selektsionnogo protsessa kartofelya). Moscow: Achievements of Science and Technology of AIC; 2006. [in Russian] (Методические указания по технологии селекционного процесса картофеля / подгот. Е.А. Симаковым, Н.П. Скляровой, И.М. Яшиным. Москва: Достижения науки и техники АПК; 2006).

Woodhall J.W., Lees A.K., Edwards S.G., Jenkinson P. Characterization of *Rhizoctonia solani* from potato in Great Britain. *Plant Pathology*. 2007;56(2):286-295. DOI: 10.1111/j.1365-3059.2006.01545.x

Yashina I.M., Sklyarova N.P., Simakov E.A. Results of use genetic sources from VIR collection in potato breeding for resistance to diseases and pests. *Works on Applied Botany, Genetics and Plant Breeding*. 2007;163:118-135. [in Russian] (Яшина И.М., Склярова Н.П., Симаков Е.А. Результаты использования генетических источников из коллекции ВИР в селекции картофеля на устойчивость к болезням и вредителям. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2007;163:118-135).

Zoteyeva N.M. Late blight resistance of wild potato species under field conditions in the Northwest of Russia. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2019;180(4):159-169. [in Russian] (Зотеева Н.М. Устойчивость диких видов картофеля к фитофторозу в полевых условиях Северо-Запада РФ. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2019;180(4):159-169). DOI: 10.30901/2227-8834-2019-4-159-169

Zoteyeva N.M., Kosareva O.S., Evdokimova Z.Z. Search for source material with late blight resistance among potato varieties and clones. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2017;178(4):119-126. [in Russian] (Зотеева Н.М., Косарева О.С., Евдокимова З.З. Поиск устойчивого к фитофторозу исходного материала для селекции сортов и клонов картофеля. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2017;178(4):119-126). DOI: 10.30901/2227-8834-2017-4-119-126

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

Евдокимова З.З., Калашник М.В. Выделение источников устойчивости к фитофторозу, ризоктониозу и других хозяйственно ценных признаков среди межвидовых гибридов картофеля. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(3):128-134. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-128-134

Evdokimova Z.Z., Kalashnik M.V. Identifying sources of resistance to late blight and black scurf and other economically useful traits among interspecific potato hybrids. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(3):128-134. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-128-134

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/10.30901/2227-8834-2020-3-128-134

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
Evdokimova Z.Z. https://orcid.org/0000-0002-2433-8052
Kalashnik M.V. https://orcid.org/0000-0001-8471-9212

Эффективная устойчивость образцов рода *Aegilops* L. к мучнистой росе

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-135-140
УДК 633.11:632.937.14
Поступление/Received: 26.02.2020
Принято/Accepted: 21.09.2020

Effective resistance to powdery mildew in *Aegilops* L. accessions

М. А. КОЛЕСОВА*, Н. Н. ЧИКИДА, М. Х. БЕЛОУСОВА, Л. Г. ТЫРЫШКИН

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

M. A. KOLESOVA*, N. N. CHIKIDA, M. KH. BELOUSOVA, L. G. TYRYSHKIN

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

Актуальность. Мучнистая роса (возбудитель *Blumeria graminis* (DC.) E.O. Speer f. sp. *tritici* Em. Marchal) распространена и вредоносна во всех регионах возделывания мягкой пшеницы. Для расширения генетического разнообразия пшеницы по устойчивости к *B. graminis* широко используются дикорастущие родичи *Triticum aestivum* L., в том числе представители рода *Aegilops* L. Цель настоящей работы – характеристика образцов семи видов эгилопсов из коллекции генетических ресурсов растений ВИР по проростковой и возрастной эффективной устойчивости к мучнистой росе. **Материалы и методы.** Материалом исследования служили 437 образцов семи видов рода *Aegilops* (*Ae. speltoides* Tausch, *Ae. caudata* L., *Ae. biuncialis* Vis., *Ae. tauschii* Coss., *Ae. cylindrica* Host, *Ae. crassa* Boiss. и *Ae. ventricosa* Tausch) из коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР, Санкт-Петербург). Ювенильную устойчивость к мучнистой росе оценивали при заражении возбудителем мучнистой росы проростков образцов в контролируемых лабораторных условиях, устойчивость взрослых растений – при искусственном заражении флаг-листьев патогеном и на естественном инфекционном фоне на полях научно-производственной базы «Пушкинские и Павловские лабораторий ВИР». Для заражения использовали сборные популяции *B. graminis*. Учет типов реакции на заражение проводили через 10 суток после инокуляции по общепринятой шкале. **Результаты и выводы.** В результате проведенной работы показана восприимчивость к мучнистой росе на всех стадиях онтогенеза изученных образцов эгилопсов D-геномной группы; все образцы видов *Ae. speltoides*, *Ae. caudata* и *Ae. biuncialis* характеризовались высоким уровнем ювенильной и возрастной резистентности к мучнистой росе.

Ключевые слова: эгилопсы, *Blumeria graminis*, проростковая устойчивость, устойчивость взрослых растений.

Background. Powdery mildew (*Blumeria graminis* (DC.) E.O. Speer f. sp. *tritici* Em. Marchal) is widespread and harmful in all regions of bread wheat cultivation. Severe development of powdery mildew leads to a decrease in the number and weight of grains. Growing resistant cultivars is the most environmentally friendly and economically profitable method to protect wheat from the disease. Development of such cultivars requires a search for new donors of effective genes controlling the resistance. To expand the genetic diversity of wheat for resistance to *B. graminis*, wild relatives of *Triticum aestivum* L., including *Aegilops* L. spp., are widely used. The aim of this work was to characterize seven *Aegilops* spp. for effective seedling and adult plant resistance to powdery mildew. **Materials and methods.** The material of the study consisted of 437 accessions representing 7 *Aegilops* spp. (*Ae. speltoides* Tausch, *Ae. caudata* L., *Ae. biuncialis* Vis., *Ae. tauschii* Coss., *Ae. cylindrica* Host, *Ae. crassa* Boiss. and *Ae. ventricosa* Tausch) from the collection of the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR, St. Petersburg). Juvenile resistance was studied when the seedlings were inoculated with the agent of powdery mildew under controlled laboratory conditions; the adult plant resistance, after artificial inoculation of the plants and under natural infection in the fields of Pushkin and Pavlovsk Laboratories of VIR. Complex populations of the *B. graminis* agent were used for inoculation. The types of response to infection were scored 10 days after inoculation according to a conventional scale. **Results and conclusions**. As a result of the tests, susceptibility to powdery mildew was shown in all *Aegilops* accessions of the D-genome group; all the studied representatives of *Ae. speltoides*, *Ae. caudata* and *Ae. biuncialis* were highly resistant to powdery mildew.

Key words: *Aegilops*, *Blumeria graminis*, seedling resistance, adult plant resistance.

Введение

В России пшеница является одной из основных продовольственных культур и главным товаром зернового экспорта. Поражение посевов культуры грибными болезнями, в том числе мучнистой росой (возбудитель *Blumeria graminis* (DC.) E.O. Speer f. sp. *tritici* Em. Marchal), приводит к значительному снижению урожайности и качества ее зерна. Так, например, потери урожая пшеницы от *B. graminis* могут составлять 10–30% (Sanin, Makarov, 1999), в годы эфипитотий – 50% и более (Vedeneeva et al., 2002).

Выращивание устойчивых сортов является самым экологически безопасным и экономически выгодным методом защиты пшеницы от болезни. Для создания таких сортов требуется поиск новых доноров эффективных генов резистентности. Запас генов устойчивости, эффективных к болезни в условиях Северо-Западного региона России, в генофонде мягкой пшеницы крайне ограничен (Lebedeva, Zuev, 2018).

Один из возможных путей его расширения – интрогрессия генов от диких родичей мягкой пшеницы, в том числе и от представителей рода *Aegilops* L. Так, например, в геном *Triticum aestivum* L. уже переданы гены устойчивости к мучнистой росе от *Ae. tauschii* Coss. (*Pm19*, *Pm34*, *Pm35*, *Pm58*), *Ae. speltoides* Tausch (*Pm12*, *Pm32*, *Pm53*), *Ae. umbellulata* Zhuk. (*Pm33*), *Ae. longissima* Schweinf. et Muschl. (*Pm13*), *Ae. ovata* L. (*Pm29*) и *Ae. searsii* Feldman et Kislev ex Hammer (*Pm57*) (McIntosh et al., 2013; McIntosh et al., 2014; McIntosh et al., 2017).

В качестве возможных доноров генов устойчивости к мучнистой росе для интрогрессивной гибридизации рекомендуют и другие виды: *Ae. ventricosa* Tausch, *Ae. comosa* Sm. in Sibth. et Sm., *Ae. triuncialis* L., *Ae. variabilis* Eig, *Ae. sharonensis* Eig, *Ae. cylindrica* Host, *Ae. crassa* Boiss., *Ae. caudate* L., *Ae. recta* (Zhuk.) Chennav. и *Ae. kotschyi* Boiss. (Ryabchenko et al., 2002).

Коллекция Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР, Санкт-Петербург) содержит более 5000 образцов 27 видов эгилопсов, собранных практически во всех ареалах их произрастания. Ранее при оценке небольшой части коллекции ВИР были выделены образцы, устойчивые к мучнистой росе (Bochev et al., 1982; Ryabchenko et al., 2002; Davoyan et al., 2014). Следует отметить, что эти исследования проводились давно и выделенные по резистентности формы могли стать восприимчивыми вследствие появления в популяциях возбудителя генотипов с расширенным спектром вирулентности, а также более агрессивных генотипов патогена. Известны случаи появления в популяциях патогенов клонов, вирулентных к образцам зерновых культур, гены которых не использовались в селекции в конкретном регионе (Tyryshkin et al., 2015; Tyunin et al., 2018).

Цель настоящей работы – идентификация высокоустойчивых к мучнистой росе образцов среди представителей семи видов рода *Aegilops*.

Материалы и методы

Материалом исследования служили 437 образцов семи видов рода *Aegilops* из коллекции генетических ресурсов растений ВИР (табл. 1).

При оценке ювенильной устойчивости по 20–30 семян каждого образца высевали в кюветы на смоченную водой вату. Кюветы с наклюнувшимися семенами переносили на светоустановку (освещенность 2500 люкс, температура 20°С).

Проростки в стадии 1-2 листьев опудривали конидиями *B. graminis*. Для заражения использовали сборную популяцию патогена, представленную смесью сборов с нескольких восприимчивых сортов мягкой пшеницы в Северо-Западном регионе РФ, не менее чем три раза за сезон вегетации хозяина. Популяцию поддерживали на интактных проростках сорта ‘Ленинградка’.

Учет типов реакции на заражение проводили через 10 суток после инокуляции по общепринятой шкале (Mains, Dietz, 1930) с модификацией, где:

0 – отсутствие симптомов поражения;

1 – очень мелкие пустулы, окруженные некрозом;

2 – крупные пустулы, окруженные некрозом либо хлорозом;

3 – крупные пустулы без некроза и хлороза.

Типы 0, 0; и 1 соответствуют высокому уровню устойчивости, 2 – среднему уровню устойчивости и 3 – восприимчивости. Все образцы, выделившиеся по резистентности в одном опыте, оценивали не менее чем в трех дополнительных независимых экспериментах.

Устойчивость растений всех изучаемых образцов эгилопсов в стадии флаг-листа оценивали в 2004–2019 гг. на полях научно-производственной базы «Пушкинские и Павловские лабораторий ВИР» (ВИР, Пушкин, Санкт-Петербург) при искусственном заражении и на естественном инфекционном фоне (в том числе и в годы эпифитотий болезни в 2007, 2015–2018 гг.) по показателю «процент пораженной листовой поверхности». Все образцы перед посевом яровизировали при 4°С в холодильнике в течение 45–60 суток.

При искусственном заражении растения эгилопсов опрыскивали суспензией конидий *B. graminis* (концентрация 100 тысяч спор/мл), либо использовали метод микрокамер. Для этого на флаг-листья помещали фильтровальную бумагу (1 × 1 см), смоченную в конидиальной суспензии патогена, лист обертывали полиэтиленовой пленкой (3 × 5 см) и с двух сторон полиэтилен закрепляли скрепками. Через 10 суток тип реакции учитывали по вышеописанной шкале (Mains, Dietz, 1930).

Таблица 1. Виды рода *Aegilops* L., изученные по устойчивости к мучнистой росе

Table 1. *Aegilops* L. spp. studied for powdery mildew resistance

Вид	Геномная формула	Плоидность, 2n=	Изучено образцов, шт.
Ae. speltoides Tausch	SS	14	10
Ae. caudata L.	CC	14	5
Ae. biuncialis Vis.	UUM^bM^b	28	10
Ae. tauschii Coss.	DD	14	75
Ae. cylindrica Host	DDCC	28	319
Ae. crassa Boiss.	$DDM^{cr}M^{cr}$	28	10
Ae. ventricosa Tausch	DDNN	28	8

Результаты и обсуждение

Все изученные образцы видов *Ae. speltoides*, *Ae. caudata* и *Ae. biuncialis* были высокоустойчивы к болезни в лабораторных экспериментах. В полевых опытах, как на естественном инфекционном фоне, так и при искусственном заражении (опрыскивание, метод микрокамер), они также проявили устойчивый тип реакции (табл. 2).

Среди 412 образцов *Ae. tauschii*, *Ae. cylindrica*, *Ae. ventricosa* и *Ae. crassa* не было выделено форм, устойчивых к мучнистой росе в стадии проростков. Все изученные образцы этих видов проявили восприимчивый тип реакции на заражение флаговых листьев сборной популяцией патогена в полевых условиях методом микрокамер. На естественном инфекционном фоне в годы сильных эпифитотий они также были высоковосприимчивы к болезни (поражено более 90% листовой поверхности).

Таблица 2. Устойчивые к мучнистой росе образцы эгилопсов (*Aegilops* L.)

Table 2. *Aegilops* L. accessions resistant to powdery mildew

Вид	№ по каталогу ВИР	Происхождение	Тип реакции		
			Искусственное заражение		Естествееный инфекционный фон
			1-2 лист	флаг-лист	
Ae. speltoides	462	неизвестно	0	0	0
	1000	Турция	0	0	0
	1015	Афганистан	0	0	0
	1593	Ирак	0	0	0
	1595	Ирак	0	0	0
	1596	Ирак	0	0	0
	2279	Иран	0	0	0
	2819	Турция	0	0	0
	2302	Румыния	0	0	0
	2371	Израиль	0	0	0
Ae. biuncialis	1045	Азербайджан	0	0	0
	1145	Азербайджан	0	0	0
	1176	Азербайджан	0	0	0
	1239	Азербайджан	0	0	0
	1444	Азербайджан	0	0	0
	2900	Болгария	0	0	0
	3006	Россия	0	0	0
	2452	Греция	0	0	0
	2531	Россия	0	0	0
	3280	Греция	0	0	0
Ae. caudata	1598	Турция	0	0	0
	1799	Греция	0	0	0
	2254	Турция	0	0	0
	2255	Турция	0	0	0
	2260	Турция	0	0	0

Согласно современной филогенетической теории донором генома D мягкой пшеницы является вид *Ae. tauschii* (Riley, Chapman, 1960; Konarev, 1980), генома G – *Ae. speltoides* (Riley et al., 1958; Konarev, 1980). В связи с этим большой интерес для работы по интрогрессивной гибридизации представляют представители этих видов.

В нашей работе среди образцов эгилопсов, содержащих геном D, не было выделено устойчивых к популяции *B. graminis* из Северо-Западного региона. Предполагается, что именно с появлением этого генома связано огромное внутривидовое разнообразие мягкой пшеницы, появление озимых форм, улучшение хлебопекарных качеств, но в то же время именно с ним связывают высокую восприимчивость *Triticum aestivum* к грибным болезням. Ранее была показана восприимчивость к мучнистой росе небольшого набора образцов видов *Aegilops tauschii* (4 образца) и *Ae. cylindrica* (8 образцов) из коллекции генетических ресурсов растений ВИР (Ryabchenko et al., 2002). В более поздних экспериментах среди D-геномных видов *Ae. tauschii* и *Ae. ventricosa* были выделены образцы, устойчивые к краснодарской популяции *B. graminis*, однако все изученные образцы *Ae. cylindrica* были восприимчивыми (Davoyan et al., 2014).

Известно, что из четырех генов, переданных в геном мягкой пшеницы от *Ae. tauschii*, ген *Pm19* не эффективен против пушкинской популяции гриба (Lebedeva, Zuev, 2018; Lebedeva et al., 2019). Ген *Pm35* эффективен в Египте (Emara et al., 2016; El-Shamy et al., 2016). Гены *Pm34* и *Pm35* были эффективны в полевых условиях на востоке США (Северная Каролина) (Petersen et al., 2015; Cowger et al., 2018). Однако линии с этими генами поражались изолятами *B. graminis*, собранными в восточной части Северной Америки в лабораторных экспериментах (Cowger et al., 2018).

По результатам многолетних исследований образцы *Ae. speltoides* характеризовались высоким уровнем ювенильной устойчивости к болезни. Также устойчивые к мучнистой росе образцы *Ae. speltoides* из коллекции генетических ресурсов растений ВИР были выделены ранее другими авторами (Ryabchenko et al., 2002; Davoyan et al., 2014).

От этого вида в геном пшеницы уже переданы гены резистентности к мучнистой росе *Pm12*, *Pm32* и *Pm53* (McIntosh et al., 2013; McIntosh et al., 2014; McIntosh et al., 2017). Ген *Pm12* сохраняет свою эффективность на востоке США (Petersen et al., 2015), в Северо-Западном регионе России (Lebedeva, Zuev, 2018; Lebedeva et al., 2019), Китае (Wang et al., 2005), Египте (Emara et al., 2016; El-Shamy et al., 2016). Ген *Pm53* эффективен на востоке США (Cowger et al., 2018). Резистентность образцов *Ae. speltoides*, выделенных в данной работе, может быть обусловлена либо уже известными эффективными генами устойчивости, либо новым/новыми геном/генами резистентности к *B. graminis.*

Нами были выделены образцы видов *Ae. caudata* и *Ae. biuncialis* характеризующиеся высоким уровнем ювенильной устойчивости к мучнистой росе. Ранее при оценке образцов *Ae. caudata* из коллекции генетических ресурсов растений ВИР также были выделены образцы, резистентные к мучнистой росе (Ryabchenko et al., 2002; Davoyan et al., 2014).

Пока не известно о случаях передачи в геном мягкой пшеницы генов устойчивости от видов *Ae. caudata* и *Ae. biuncialis*, и теоретически резистентные в данной работе образцы могут иметь новый/новые ген/гены устойчивости к *B. graminis*.

В наших предыдущих работах было показано, что образцы *Ae. speltoides*: к-462, к-1000, к-1015, к-1593, к-1595, к-2279, к-2819, к-2302, к-2371; *Ae. biuncialis*: к-1145, к-2900, к-3006, к-2452, к-2531 и *Ae. caudata* к-1598 обладают высоким уровнем устойчивости к *Puccinia triticina* Erikss. Образцы *Ae. caudata* к-2254 и к-2255 высокоустойчивы к обыкновенной корневой гнили (возбудитель *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker) (Kolesova, 2008; Kolesova, Tyryshkin, 2015; Kolesova, 2017; Kolesova, Tyryshkin, 2018). Таким образом, нами выделены образцы рода *Aegilops*, обладающие групповой устойчивостью к мучнистой росе и листовой ржавчине, а также к мучнистой росе и обыкновенной корневой гнили.

Заключение

По данным многолетних исследований нами были выделены 25 образцов трех видов эгилопсов *Ae. speltoides*, *Ae. caudata* и *Ae. biuncialis*, характеризующихся высоким уровнем ювенильной и возрастной устойчивости к северо-западной популяции *B. graminis.* Для определения перспективности привлечения данных форм в селекцию на иммунитет необходимо дальнейшее изучение генетического контроля признака. Среди 412 образцов D-геномной группы (*Ae. tauschii*, *Ae. cylindrica*, *Ae. ventricosa* и *Ae. crassa*) не было выделено форм, устойчивых к мучнистой росе, как в проростковой стадии, так и стадии флаг-листа.

Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0662-2019-0006 «Поиск, поддержание жизнеспособности и раскрытие потенциала наследственной изменчивости мировой коллекции зерновых и крупяных культур ВИР для развития оптимизированного генбанка и рационального использования в селекции и растениеводстве».

The work was performed within the framework of the State Task according to the theme plan of VIR, Project No. 0662-2019-0006 "Search For and Viability Maintenance, 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".

References/Литература

Bochev B., Kunovski Zh., Ganeva G. The genus *Aegilops* L. as a source for breeding wheat for resistance to fungal diseases. *Bulletin of Applied Botany, Genetics and Breeding*. 1982;73(3):111-120. [in Russian] (Бочев Б., Куновски Ж., Ганева Г. Род *Aegilops* L. как источник устойчивости к грибным болезням для селекции пшениц. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции.* 1982;73(3):111-120).

Cowger C., Mehra L., Arellano C., Meyers E., Murphy J.P. Virulence differences in *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* from the Central and Eastern United States. *Phytopathology.* 2018;108(3):402-411. DOI: 10.1094/PHYTO-06-17-0211-R

Davoyan R.O., Bebyakina I.V., Davoyan E.R., Zubanova Y.S., Zinchenko A.N. Characterization of the *Aegilops* and

Triticum species according to their resistance to leaf and yellow rust and powdery mildew. *Science of Kuban*. 2014;1:32-35. [in Russian] (Давоян Р.О., Бебякина И.В., Давоян Э.Р., Зубанова Ю.С., Зинченко А.Н. Характеристика видов *Aegilops* и *Triticum* по устойчивости к листовой ржавчине, желтой ржавчине и мучнистой росе. *Наука Кубани*. 2014;1:32-35).

El-Shamy M.M., Emara H.M., Mohamed M.E. Virulence analysis of wheat powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) and effective genes in Middle Delta, Egypt. *Plant Disease*. 2016;100(9):1927-1930. DOI: 10.1094/PDIS-01-16-0130-RE

Emara H.M., Omar A.F., El-Shamy M.M., Mohamed M.E. Identification of *Pm24*, *Pm35* and *Pm37* in thirteen Egyptian bread wheat cultivars using SSR markers. *Ciência e Agrotecnologia*. 2016;40(2):155-163. DOI: 10.1590/1413-70542016403036315

Kolesova M.A. Characterization of *Aegilops biuncialis* Viz. samples for juvenile resistance to fungal diseases. *Modern Science Success*. 2017;2(9):126-129. [in Russian] (Колесова М.А. Характеристика образцов *Aegilops biuncialis* Viz. по ювенильной устойчивости к грибным болезням. *Успехи современной науки*. 2017;2(9):126-129).

Kolesova M.A. Resistance of *Aegilops* L. species to common root rot. *Izvestiya Saint-Petersburg State Agrarian University*. 2008;9:33-35. [in Russian] (Колесова М.А. Устойчивость видов рода *Aegilops* L. к обыкновенной корневой гнили. *Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета*. 2008;9:33-35).

Kolesova M.A., Tyryshkin L.G. Characterization of samples of *Aegilops* L. species by effective resistance to diseases. 2015;29(7):20-23. *Achievements of Science and Technology of AIC*. [in Russian] (Колесова М.А., Тырышкин Л.Г. Характеристика образцов рода *Aegilops* L. по эффективной устойчивости к болезням. *Достижения науки и техники АПК*. 2015;29(7):20-23).

Kolesova M.A., Tyryshkin L.G. Inheritance of effective juvenile leaf rust resistance in six accessions of *Aegilops speltoides* Tausch. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2018;179(4):104-110. [in Russian] (Колесова М.А., Тырышкин Л.Г. Наследование эффективной ювенильной устойчивости шести образцов *Aegilops speltoides* Tausch к листовой ржавчине. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2018;179(4):104-110). DOI: 10.30901/2227-8834-2018-4-104-110

Konarev V.G. Proteins of wheat (Belki pshenitsy). Moscow: Kolos; 1980. [in Russian] (Конарев В.Г. Белки пшеницы. Москва: Колос; 1980).

Lebedeva T.V., Zuev E.V. Inheritance of powdery mildew resistance in selected spring bread wheat accessions from the VIR collection. *Vavilovia*. 2018;1(1):18-24. [in Russian] (Лебедева Т.В., Зуев Е.В. Наследование устойчивости к мучнистой росе у некоторых образцов яровой мягкой пшеницы из коллекции ВИР. *Vavilovia*. 2018;1(1):18-24). DOI: 10.30901/2658-3860-2018-1-18-24

Lebedeva T.V., Zuev E.V., Brykova A.N. Prospects of employing modern European cultivars of spring bread wheat in the breeding for powdery mildew resistance in the Northwestern region of Russia. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2019;180(4):170-176. [in Russian] (Лебедева Т.В., Зуев Е.В., Брыкова А.Н. Перспективность использования современных европейских сортов яровой мягкой пшеницы для селекции на устойчивость к мучнистой росе в Северо-Западном регионе РФ. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2019;180(4):170-176). DOI: 10.30901/2227-8834-2019-4-170-176

Mains E.B., Dietz S.M. Physiologic forms of barley mildew, *Erysiphe graminis hordei* Marchal. *Phytopathology*. 1930;20:229-239.

McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers W.J., Morris C., Appels R., Xia X.C. Catalogue of gene symbols for wheat: 2013-2014 supplement. 2014. Available from: https://shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene/supplement2013.pdf [accessed Dec. 25, 2019].

McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers W.J., Morris C., Appels R., Xia X.C. Catalogue of gene symbols for wheat: 2017 supplement. 2017. Available from: https://shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene/supplement2017.pdf [accessed Dec. 25, 2019].

McIntosh R.A., Yamazaki Y., Dubcovsky J., Rogers J., Morris C., Appels R., Xia X.C. Catalogue of gene symbols for wheat. In: *Proceedings of the 12th International Wheat Genetics Symposium; 8-13 September 2013; Yokohama, Japan*. Springer Open; 2013. Available from: https://wheat.pw.usda.gov/GG2/Triticum/wgc/2013/GeneCatalogueIntroduction.pdf [accessed Dec. 25, 2019].

Petersen S., Lyerly J.H., Worthington M.L., Parks W.R., Cowger C., Marshall D.S. et al. Mapping of powdery mildew resistance gene *Pm53* introgressed from *Aegilops speltoides* into soft red winter wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 2015;128(2):303-312. DOI: 10.1007/s00122-014-2430-8

Riley R., Chapman V. The D genome of hexaploid wheat. *Wheat Information Service*. 1960;11:18-19.

Riley R., Unrau J., Chapmen V. Evidence on the origin of the B genome of wheat. *Journal of Heredity*. 1958;49(3):91-98.

Ryabchenko A.S., Serezhkina G.V., Mishina G.N., Andreev L.N., Chikida N.N. *Aegilops* species as sources of wheat resistance to powdery mildew infection. *AgroXXI*. 2002;2:14-16. [in Russian] (Рябченко А.С., Сережкина Г.В., Мишина Г.Н., Андреев Л.Н., Чикида Н.Н. Виды эгилопса как источники устойчивости пшеницы к мучнисторосяной инфекции. *АгроXXI*. 2002;2:14-16).

Sanin S.S., Makarov A.A. Biological, agroecological and economic aspects of phytosanitary monitoring. *Plant Protection News*. 1999;1:62-66. [in Russian] (Санин С.С., Макаров А.А. Биологические, агроэкологические и экономические аспекты фитосанитарного мониторинга. *Вестник защиты растений*. 1999;1:62-66).

Tyryshkin L.G., Kilat N.S., Gashimov M.E., Kolesova M.A., Sidorov A.V. The first identification of virulence to the barley resistance gene *Rph7* in the population of leaf rust in the North-Western region of Russia (*Pervaya identifikatsiya virulentnosti k genu ustoychivosti yachmenya Rph7 v populyatsii vozbuditelya karlikovoy rzhavchiny v Severo-Zapadnom regione Rossii*). In: *Scientific Proceedings of the II International Scientific and Practical Conference "Prospects of the Development of Modern Agricultural Sciences* (*Sbornik nauchnykh trudov po itogam II mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii "Perspektivy razvitiya sovremennykh selskokhozyaystvennykh nauk"*). Voronezh; 2015. Iss. II. p.36-37. [in Russian] (Тырышкин Л.Г. Килат Н.С., Гашимов М.Э., Колесова М.А., Сидоров А.В. Первая идентификация вирулентности к гену устойчивости ячменя *Rph7* в популяции возбудителя карликовой ржавчины в Северо-Западном регионе России. В кн.: *Сборник научных трудов по итогам II международной научно-практической конференции «Перспективы развития современных сельскохозяйственных наук»*. Воронеж; 2015. Вып. II. С.36-37). URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_25258948_18218819.pdf [дата обращения: 24.06. 2020].

Tyunin V.A., Shreyder E.R., Gultyaeva E.I., Shaydayuk E.L. Virulence of leaf rust pathogen of wheat in South Ural. *Plant Protection News*. 2018;1(95):16-20. [in Russian] (Тюнин В.А., Шрейдер Е.Р., Гультяева Е.И., Шайдаюк Е.Л. Вирулентность возбудителя бурой ржавчины пшеницы на Южном Урале. *Вестник защиты растений.* 2018;1(95):16-20).

Vedeneeva M.L., Markelova T.S., Kirillova T.V., Anikeeva N.V. Strategy of wheat disease-resistant varieties in Volga region. 1. Leaf rust, powdery mildew, loose smut and bunt. *AgroXXI*. 2002;2:12-13. [in Russian] (Веденеева М.Л., Маркелова Т.С., Кириллова Т.В., Аникеева Н.В. Стратегия селекции болезнеустойчивых сортов пшеницы в Поволжье. 1. Бурая ржавчина, мучнистая роса, пыльная и твердая головня. *АгроXXI*. 2002;2:12-13).

Wang Z.L., Li L.H., He Z.H., Duan X.Y., Zhou Y.L., Chen X.M. et al. Seedling and adult plant resistance to powdery mildew in Chinese bread wheat cultivars and lines. *Plant Disease.* 2005;89:457-463. DOI: 10.1094/PD-89-0457

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

Колесова М.А., Чикида Н.Н., Белоусова М.Х., Тырышкин Л.Г. Эффективная устойчивость образцов рода *Aegilops* L. к мучнистой росе. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(3):135-140. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-135-140

Kolesova M.A., Chikida N.N., Belousova M.Kh., Tyryshkin L.G. Effective resistance to powdery mildew in *Aegilops* L. accessions. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(3):135-140. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-135-140

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/10.30901/2227-8834-2020-3-135-140

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
Kolesova M.A. https://orcid.org/0000-0001-6310-127X
Chikida N.N. https://orcid.org/0000-0002-9698-263X
Belousova M.Kh. https://orcid.org/0000-0003-0980-3531
Tyryshkin L.G. https://orcid.org/0000-0002-3502-549X

Доноры эффективных генов устойчивости ячменя к ринхоспориозу

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-141-145
УДК 633.16:581.573.4
Поступление/Received: 07.02.2020
Принято/Accepted: 21.09.2020

Donors of effective genes for scald resistance in barley

Г. С. КОНОВАЛОВА, Е. Е. РАДЧЕНКО

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44
konovalova.g.s@gmail.com

G. S. KONOVALOVA, E. E. RADCHENKO

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia
konovalova.g.s@gmail.com

Актуальность. Одним из наиболее распространенных заболеваний ячменя во всех зонах его возделывания является ринхоспориоз. Для возбудителя болезни *Rhynchosporium commune* Zaffarano, B.A. McDonald & A. Linde (ранее – *Rhynchosporium secalis* (Oudem.) J.J. Davis) характерен высокий уровень изменчивости, что обусловливает появление новых патотипов и потерю устойчивости ряда сортов. Большая часть рекомендованных к возделыванию сортов ячменя сильно поражается патогеном. Цель исследований – поиск новых доноров эффективных генов устойчивости ячменя к *R. commune*. **Материалы и методы.** В лабораторных и полевых экспериментах исследовали устойчивость к грибу 99 образцов местного ячменя из 18 стран мира. Растения инокулировали изолятами патогена, выделенными из северо-западной (Ленинградская область) популяции *R. commune*. Устойчивость растений оценивали с использованием балловых шкал. У выделившихся форм с помощью гибридологического анализа изучили генетический контроль устойчивости к грибу. **Результаты и выводы.** Выделили три образца местного ячменя, которые сохраняли высокую устойчивость к грибу в течение шести лет изучения в поле при инокуляции разными популяциями *R. commune*. Образцы к-31503 (Индия), к-31504 (Македония) и к-31505 (Эфиопия) имеют гены устойчивости к *R. commune*, которые различаются между собой, не аллельны эффективному гену *Rrs9* и проявляются на протяжении всех этапов органогенеза растений. Образцы к-31504 и к-31505 несут по два рецессивных гена устойчивости к патогену, к-31503 защищен тремя рецессивными генами.

Ключевые слова: *Hordeum vulgare*, *Rhynchosporium commune*, вирулентность, образцы местного ячменя, гибридологический анализ.

Background. One of the most harmful diseases of barley in all areas of its cultivation is scald. The causal agent *Rhynchosporium commune* Zaffarano, B.A. McDonald & A. Linde (formerly – *Rhynchosporium secalis* (Oudem.) J.J. Davis) is characterized by a high level of variability, which leads to the emergence of new pathotypes and the loss of resistance of a number of cultivars. Most barley cultivars recommended for cultivation are highly affected by the pathogen. The aim of the study was to find new donors of effective barley resistance genes to *R. commune*. **Materials and methods.** Resistance to the fungus was tested in 99 accessions of barley landraces from 18 countries under laboratory and field conditions. The experiments employed isolates and clones of *R. commune* isolated from plants collected in Leningrad Province. Plant resistance was scored using point scales. Genetic control of fungal resistance was studied in the selected accessions using hybridological analysis. **Results and conclusions.** We identified 3 accessions of barley landraces, which retained high resistance to the fungus for six years of study in the field under inoculation with different populations of *R. commune*. Accessions k-31504 (Macedonia), k-31505 (Ethiopia) and k-31503 (India) are protected by *R. commune* resistance genes, which differ from each other, are not allelic to the previously identified effective *Rrs9* gene, and manifest themselves throughout all stages of barley ontogenesis. Each of accessions k-31504 and k-31505 incorporates 2 recessive pathogen resistance genes; k-31503 carries 3 recessive resistance genes.

Key words: *Hordeum vulgare*, *Rhynchosporium commune*, virulence, landraces, hybridological analysis.

Введение

На посевах ячменя (*Hordeum vulgare* L.) в России широко распространен и вредоносен ринхоспориоз, вызываемый гемибиотрофным патогеном *Rhynchosporium commune* Zaffarano, B.A. McDonald & A. Linde (ранее – *Rhynchosporium secalis* (Oudem.) J.J. Davis). При раннем поражении растений грибом существенно уменьшаются продуктивная кустистость и масса семян, при этом потери урожая достигают 40% (McDonald et al., 1999; Carisse et al., 2000; Robbertse et al., 2000). Для *R. commune* характерна высокая изменчивость (Tekauz, 1991; Jørgensen, Smedegaard-Petersen, 1995). Половая стадия *R. commune* не выявлена, а вариабельность гриба обеспечивается за счет высокой мутабельности, соматической рекомбинации и чередования растений-хозяев. В результате этого в популяциях гриба отбираются и накапливаются новые фенотипы вирулентности, преодолевающие гены устойчивости растений. Большая часть рекомендованных к возделыванию сортов ячменя сильно поражаются патогеном. В литературе описано от 14 до 17 генов устойчивости *H. vulgare* к ринхоспориозу (Bjørnstad et al., 2002; Hanemann et al., 2009), однако почти все идентифицированные гены неэффективны против российских популяций *R. commune*. Изучение степени поражения почти изогенных линий ячменя (NIL) в Северо-Западном регионе России показало, что лишь одна линия с геном устойчивости *Rrs9* сохраняет высокую эффективность (Konovalova, Soboleva, 2010).

Возможность приспособления гриба к питающему растению обусловливает необходимость постоянного поиска новых источников устойчивости среди коллекционных образцов ячменя. Результаты наших опытов свидетельствуют, что местные формы *H. vulgare* являются довольно богатым источником пополнения запаса эффективных генов устойчивости к патогену. Так, с помощью гибридологического анализа показано, что образцы из Китая к-15868 и к-3481 имеют по два комплементарных рецессивных гена устойчивости к *R. commune*, к-18989 – два рецессивных гена, а образец к-3307 – один рецессивный ген устойчивости к патогену (Soboleva et al., 2016). Образцы местного ячменя к-16233, к-27205 (Китай), к-27768 (Индия) и к-22299 (Эквадор) защищены эффективными генами устойчивости к ринхоспориозу, которые различаются между собой и не аллельны эффективному гену *Rrs9*. Показано, что образцы к-16233, к-27768 и к-22299 имеют по два доминантных гена устойчивости к *R. commune*, образец к-27205 защищен одним доминантным геном. Гены устойчивости у этих форм проявляются в течение всего онтогенеза ячменя (Konovalova, Radchenko, 2018).

Цель работы – осуществить поиск источников устойчивости к *R. commune* среди образцов местного ячменя, переданных во Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР) Международным центром сельскохозяйственных исследований в засушливых районах (ICARDA, Сирия), и у выделившихся форм исследовать генетический контроль устойчивости к патогену.

Материалы и методы

В лабораторных условиях оценили ювенильную устойчивость к *R. commune* 99 образцов местного ячменя из 18 стран мира, поступивших в коллекцию ВИР из ICARDA в 2010 г. В данный набор вошли преимущественно ячмени Китая (23 образца), Эфиопии (14), Турции (11), Чехии (14) и Македонии (12); материал из остальных стран был представлен 1–4 формами. Выделившиеся в лаборатории образцы оценивали в поле на искусственном инфекционном фоне.

Растения инокулировали изолятами и моноспоровыми культурами *R. commune*, выделенными из северо-западной популяции патогена (Санкт-Петербург, Пушкин; Рождествено Ленинградской области). Изоляцию, клонирование и культивирование гриба проводили на картофельно-глюкозном агаре; растения заражали 14-дневной культурой *R. commune* (Konovalova, 2008).

Для оценки устойчивости растений в фазе всходов применяли метод заражения отрезков листьев на поверхности 1-процентного агара, содержащего 0,005-процентный раствор бензимидазола. На отрезки листьев наносили капли суспензии спор *R. commune* (500–700 тыс. конидий в 1 мл). Через три недели после заражения листьев учитывали типы реакции растений по шкале от 0 (отсутствие симптомов заболевания) до 4 (окаймленный некроз, занимающий всю поверхность отрезка листа). Реакции устойчивости соответствует поражение листьев, не превышающее балл 2, реакции восприимчивости – 3 и 4 балла (Konovalova, 2008).

В период «кущение – выход в трубку» растения в поле поздно вечером опрыскивали суспензией спор гриба (500 тыс. конидий в 1 мл) и на 12 ч накрывали полиэтиленом. Степень развития болезни учитывали по шкале от 0 (отсутствие симптомов) до 5 (сливающиеся некрозы с хлорозом по всей поверхности листа, отмирание листьев нижних ярусов). Поражение до 2 баллов (не более 30% поверхности листьев нижнего яруса) соответствует реакции устойчивости, 3–5 – реакции восприимчивости (Konovalova, 2008).

С целью изучения генетического контроля устойчивости к *R. commune* выделенные образцы скрещивали на поле научно-производственной базы «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» (Санкт-Петербург, Пушкин). Для определения числа генов резистентности провели скрещивание образцов с восприимчивым к патогену сортом ‘Cambrinus’. Для исследования аллельных отношений генов устойчивости выделенные образцы скрещивали друг с другом, с почти изогенной линией NIL 9, защищенной эффективным геном *Rrs9*, а также с образцами к-27768 (Индия) и к-22299 (Эквадор), которые имеют по два эффективных доминантных гена устойчивости (Konovalova, Radchenko, 2018).

Гибридологический анализ проводили в поле, изучая поколения F_1 и F_2 на фоне искусственного заражения растений 23 изолятами, выделенными из двух популяций (Санкт-Петербург, Пушкин; Рождествено) *R. commune*. Гибриды оценивали в период, когда поражение сорта ‘Cambrinus’ достигало четырех баллов. К устойчивому классу относили растения, тип реакции которых соответствовал баллам 0–2, к восприимчивому – 3–5. Соответствие фактически полученных данных теоретически ожидаемым проверяли с помощью критерия χ^2.

Результаты и обсуждение

В результате лабораторных исследований выявили 18 образцов с ювенильной устойчивостью к патогену. После полевого испытания устойчивыми во взрослом состоянии оказались лишь семь образцов. Некоторые формы были гетерогенны: отдельные растения характеризовались восприимчивостью или частичной устойчивостью к грибу. Для дальнейшей работы собирали семена, только со здоровых растений. Среди семи выделенных образцов только три (к-31504, Македония; к-31505, Эфиопия, к-31503, Индия) сохраняли устойчивость в течение шести лет изучения в поле при инокуляции разными популяциями *R. commune*.

Растения F_1 от скрещивания всех трех выделенных образцов с чувствительным тестером ‘Cambrinus’ оказались восприимчивыми, то есть устойчивость контролируется рецессивными генами. Расщепление по дигибридной схеме (по два рецессивных гена устойчивости) выявили в гибридных популяциях F_2 к-31504 × Cambrinus и к-31505 × Cambrinus (табл. 1). В F_2 к-31503 × Cambrinus соотношение устойчивых (R) и восприимчивых (S) соответствовало теоретически ожидаемому при контроле признака тремя рецессивными генами.

Изучили аллельные отношения генов устойчивости к *R. commune* у изучаемых образцов (табл. 2). В комбинациях скрещивания к-31503 × к-31505, к-31503 × к-31504 и к-31504 × к-31505 выявлено расщепление по изучаемому признаку, что указывает на различие генов устойчивости у этих образцов. В F_2 от скрещивания образца к-31503 с к-31504 наблюдали расщепление по

Таблица 1. Расщепление по устойчивости к *Rhynchosporium commune* F_2 гибридов от скрещивания устойчивых образцов с чувствительным тестером

Table 1. Segregation for resistance to *Rhynchosporium commune* in F_2 hybrids from crossing between resistant accessions and a susceptible cultivar

Комбинация скрещивания	Соотношение фенотипов R : S		χ^2*	Вероятность P
	фактическое	ожидаемое		
к-31504 × Cambrinus	104 : 137	7 : 9	0,035	0,80 – 0,90
к-31505 × Cambrinus	112 : 133	7 : 9	0,384	0,50 – 0,75
к-31503 × Cambrinus	95 : 63	37 : 27	0,347	0,50 – 0.75

* – Здесь и в таблицах 2 и 3 $\chi^2_{0,05}$ = 3,84
* – Here, as in Tables 2 and 3, $\chi^2_{0.05}$ = 3.84

Таблица 2. Расщепление по устойчивости к *Rhynchosporium commune* F_2 гибридов от скрещивания выделенных образцов ячменя

Table 2. Segregation for resistance to *Rhynchosporium commune* in F_2 hybrids from crossing between barley accessions identified for their resistance

Комбинация скрещивания	Соотношение фенотипов R : S		χ^2	Вероятность P
	фактическое	ожидаемое		
к-31503 × к-31505	408 : 42	781 : 243	51,535	> 0,005
к-31503 × к-31504	144 : 56	781 : 243	2,014	0,10 – 0,20
к-31504 × к-31505	67 : 29	175 : 81	0,091	0,75 – 0,80

пяти рецессивным генам, контролирующим устойчивость. В F_2 к-31504 × к-31505 фактическое соотношение фенотипов соответствовало теоретически ожидаемому 175 : 81, что свидетельствует о дигенном рецессивном контроле признака у каждого из этих образцов. При скрещивании к-31503 с к-31505 в F_2 наблюдали соотношение 408 : 42, которое не соответствует теоретически ожидаемому при расщеплении по пяти рецессивным генам устойчивости. Наиболее вероятное объяснение этого противоречия – ошибка классификации фенотипов. В любом случае гены устойчивости этих образцов не аллельны, на что указывает расщепление в F_2 к-31503 × к-31505.

Образцы имеют гены устойчивости к *R. commune*, отличающиеся от идентифицированного ранее гена *Rrs9*: во всех трех комбинациях скрещиваний выделенных нами форм с почти изогенной линией NIL 9 выявлено расщепление по устойчивости к грибу (табл. 3). Гибри-

Таблица 3. Расщепление по устойчивости к *Rhynchosporium commune* F_2 гибридов от скрещивания устойчивых образцов с тестером гена *Rrs9* и выделенными ранее донорами устойчивости

Table 3. Segregation for resistance to *Rhynchosporium commune* in F_2 hybrids from crossing resistant accessions with the *Rrs9* gene carrier and previously identified donors of resistance

Комбинация скрещивания	Соотношение фенотипов R : S		χ^2	Вероятность P
	фактическое	ожидаемое		
к-31504 × NIL 9 (*Rrs9*)	227 : 48	55 : 9	2,618	0,10 – 0,20
к-31505 × NIL 9 (*Rrs9*)	83 : 10	55 : 9	0,843	0,25 – 0,50
к-31503 × NIL 9 (*Rrs9*)	195 : 24	229 : 27	0,004	0,90 – 0,95
к-31503 × к-22299	191 : 5	997 : 27	0,006	0,90 – 0,95
к-31503 × к-27768	207 : 6	997 : 27	0,027	0,80 – 0,90
к-31505 × к-22299	206 : 8	247 : 9	0,031	0,80 – 0,90
к-31505 × к-27768	177 : 6	247 : 9	0,030	0,80 – 0,90
к-31504 × к-22299	137 : 7	247 : 9	0,769	0,25 – 0,50
к-31504 × к-27768	189 : 6	247 : 9	0,144	0,50 – 0,75

дологический анализ показал также, что выделенные образцы защищены генами устойчивости к *R. commune*, которые отличаются от генов, имеющихся у образцов к-27768 и к-22299 (см. табл. 3). Результаты изучения аллельных отношений генов устойчивости подкрепляют вывод о том, что образцы к-31504 и к-31505 имеют по два рецессивных гена устойчивости к патогену, а образец к-31503 – три рецессивных гена.

Рецессивный характер наследования признака у образцов к-31504, к-31505 и к-31503 свидетельствует также о различии генетического контроля устойчивости у этих форм и изученных ранее (Konovalova, Radchenko, 2018) к-16233 (два доминантных гена устойчивости) и к-27205 (один доминантный ген). Следует сравнить гены устойчивости новых доноров с рецессивными генами, которыми защищены образцы ячменя из Китая (Soboleva et al., 2016) к-15868 и к-3481 (имеют по два комплементарных рецессивных гена устойчивости к *R. commune*), к-18989 (два рецессивных гена) и к-3307 (один рецессивный ген устойчивости к патогену).

Выводы

Образцы местного ячменя к-31503 (Индия), к-31504 (Македония) и к-31505 (Эфиопия) несут гены устойчивости к *Rhynchosporium commune*, которые различаются между собой, не аллельны эффективному гену *Rrs9* и проявляются на протяжении всего периода вегетации ячменя. Образцы к-31504 и к-31505 имеют по два рецессивных гена устойчивости к грибу, к-31503 защищен тремя рецессивными генами.

Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР № 0662-2019-0006 «Структурирование и раскрытие потенциала наследственной изменчивости мировой коллекции зерновых и крупяных культур ВИР для развития оптимизированного генбанка и рационального использования в селекции и растениеводстве».

The research was performed within the framework of the State Task according to the theme plan of VIR, Project No. 0662-2019-0006 "Search For and Viability Maintenance, 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."

References/Литература

Bjørnstad A., Patil V., Tekauz A., Marøy A.G., Skinnes H., Jensen A. et al. Resistance to scald (*Rhynchosporium secalis*) in barley (*Hordeum vulgare*) studied by near-isogenic lines: I. Markers and differential isolates. *Phytopathology*. 2002;92(7):710-720. DOI: 10.1094/PHYTO.2002.92.7.710

Carisse K.X., Burnett P.A., Tewari J.P., Chen M.H., Turkington T.K., Helm J.H. Histopathological study of barley cultivars resistant and susceptible to *Rhynchosporium secalis*. *Phytopathology.* 2000;90(1):94-102. DOI: 10.1094/PHYTO.2000.90.1.94

Hanemann A., Schweizer G.F., Cossu R., Wicker T., Röder M.S. Fine mapping, physical mapping and development of diagnostic markers for the *Rrs2* scald resistance gene in barley. *Theoretical and Applied Genetics*. 2009;119(8):1507-1522. DOI: 10.1007/s00122-009-1152-9

Jørgensen H.J.L., Smedegaard-Petersen V. Pathogenic variation of *Rhynchosporium secalis* in Denmark and sources of resistance in barley. *Plant Disease*. 1995;79(3):297-301. DOI: 10.1094/PD-79-0297

Konovalova G.S. Scald (Rinkhosporioz). In: E.E. Radchenko (ed.). *The study of the genetic resources of cereal crops for resistance to harmful organisms. A guide* (*Izucheniye geneticheskikh resursov zernovykh kultur po ustoychivosti k vrednym organizmam. Metodicheskoye posobiye*) Moscow: Rosselkchozakademiya; 2008. p.129-135. [in Russian] (Коновалова Г.С. Ринхоспориоз. В кн.: *Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам. Методическое пособие* / под ред. Е.Е. Радченко. Москва: Россельхозакадемия; 2008. С.129-135).

Konovalova G.S., Radchenko E.E. Inheritance of scald resistance in four barley landraces. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding.* 2018;179(3):265-271. [in Russian] (Коновалова Г.С., Радченко Е.Е. Наследование устойчивости к ринхоспориозу у четырех образцов местного ячменя. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2018;179(3):265-271). DOI: 10.30901/2227-8834-2018-3-265-271

Konovalova G.S., Soboleva O.N. Sources of barley resistance to scald causal agent (*Rhynchosporium secalis*) from South-East Asia. *Mycology and Phytopathology*. 2010;44(3):248-254. [in Russian] (Коновалова Г.С., Соболева О.Н. Источники устойчивости ячменя из Юго-Восточной Азии к возбудителю ринхоспориоза (*Rhynchosporium secalis*). *Микология и фитопатология*. 2010;44(3):248-254).

McDonald B.A., Zhan J., Burdon J.J. Genetic structure of *Rhynchosporium secalis* in Australia. *Phytopathology*. 1999;89(8):639-645. DOI: 10.1094/PHYTO.1999.89.8.639

Robbertse B., Lennox C.L., van Jaarsveld A.B., Crous P.W., van der Rijst M. Pathogenicity of the *Rhynchosporium secalis* population in the Western Cape province of South Africa. *Euphytica*. 2000;115(1):75-82. DOI: 10.1023/A:1003946623529

Soboleva O.N., Konovalova G.S., Radchenko E.E. Genetic control of scald resistance in barley landraces. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2016;20(5):616-622. [in Russian] (Соболева О.Н., Коновалова Г.С., Радченко Е.Е. Генетический контроль устойчивости образцов местного ячменя к ринхоспориозу. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016;20(5):616-622). DOI: 10.18699/ VJ16.141

Tekauz A. Pathogenic variation in *Rhynchosporium secalis* on barley in Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 1991;13(4):298-304. DOI: 10.1080/07060669109500915

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

Коновалова Г.С., Радченко Е.Е. Доноры эффективных генов устойчивости ячменя к ринхоспориозу. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(3):141-145. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-141-145

Konovalova G.S., Radchenko E.E. Donors of effective genes for scald resistance in barley. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding.2020;181(3):141-145.DOI:10.30901/2227-8834-2020-3-141-145

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/10.30901/2227-8834-2020-3-141-145

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
Konovalova G.S. http://orcid.org/0000-0001-6787-5766
Radchenko E.E. http://orcid.org/0000-0002-3019-0306

Устойчивость к мучнистой росе скандинавских образцов яровой мягкой пшеницы из коллекции ВИР

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-146-154

УДК 633.11:581.573.4
Поступление/Received: 11.03.2020
Принято/Accepted: 21.09.2020

Powdery mildew resistance of Nordic spring bread wheat accessions from the collection of the Vavilov Institute (VIR)

Т. В. ЛЕБЕДЕВА, А. Н. БРЫКОВА, Е. В. ЗУЕВ

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова,
190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44
riginbv@mail.ru

T. V. LEBEDEVA, A. N. BRYKOVA, E. V. ZUEV

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources,
42, 44 Bolshaya Morskaya Street,
St. Petersburg 190000, Russia
riginbv@mail.ru

Актуальность. Мучнистая роса относится к числу вредоносных заболеваний зерновых культур. Ежегодные потери урожая могут достигать 10–15%, а в годы эпифитотий – и 30%. **Цель данной работы** – обобщить многолетние данные полевых и лабораторных исследований устойчивости к мучнистой росе образцов яровой мягкой пшеницы из Скандинавских стран, представленных в коллекции ВИР, а также выявить образцы, не поражаемые патогеном на всех фазах развития. **Материал и методы**. Оценена динамика взрослой и проростковой устойчивости к мучнистой росе 279 образцов яровой мягкой пшеницы из Скандинавских стран. Реакцию образцов оценивали к природной популяции гриба с 1961 по 2019 г. Полевые и лабораторные исследования устойчивости к патогену проводили согласно методическим указаниям ВИР. **Результаты**. Анализ базы оценочных данных отдела генетических ресурсов пшеницы ВИР установил, что многие образцы устойчивы к мучнистой росе в поле с 1970 по 1990 г. Полевые и лабораторные изучения 105 стародавних и современных скандинавских сортов пшеницы выявили образцы, характеризующиеся устойчивостью к патогену на всех фазах развития. Полученные данные были перепроверены в 2012 и 2013 г. **Заключение.** Шведские сорта ‘Sunnan’ (к-58177), ‘Canon’ (к-60992), ‘Sober’ (к-61080), ‘Dragon’ (к-61515), ‘Dacke’ (к-63479) сохраняют устойчивость к популяциям гриба с 1993 г. Сорта ‘SW Vals’ (к-64433), ‘SW Milljet’ (к-64434), ‘SW Estrad’ (к-64435), ‘SW Vinjett’ (к-64436), ‘Zebra’ (к-64707), ‘SW Kungsjet’ (к-66036), ‘SW Kronjet’ (к-66097), ‘Boett’ (к-66353) устойчивы на всех фазах развития с 2005 по 2019 г.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., сорт, линия, восприимчивость к *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*, фаза проростков, фаза взрослого растения.

Background. Powdery mildew is one of the harmful and destructive foliar diseases of cereal crops, caused by the fungus *Blumeria graminis* (DC.) E.O. Speer f. sp. *tritici* Em. Marchal. Annual harvest losses may reach 10–15%, and up to 30% in an epidemic year. The VIR collection contains rich diversity of wheat, a valuable source of original material for wheat resistance breeding programs. The aim of this study was to generalize the results of long-term field and laboratory investigations on powdery mildew resistance in spring bread wheat of Nordic origin from the VIR collection and search for accessions resistant in all development phases. **Materials and methods**. Powdery mildew resistance was analyzed in 279 accessions originated from Sweden, Finland, Norway and Denmark. The tests were performed from 1961 to 2019 against a natural population of the fungus in VIR’s experimental field (Pushkin, St. Petersburg). Field and laboratory studies were carried out in accordance with the guidelines developed by VIR. **Results**. The analysis of the field data on powdery mildew resistance in spring bread wheat accessions against the Pushkin population of the fungus showed that many Nordic accessions were resistant from 1970 till 1990. These data were retested in 2012–2013. One hundred and five accessions of old landraces and modern cultivars of Nordic origin were studied under field and laboratory conditions for their response to a natural population of the fungus. Accessions resistant in all phases of plant development were identified. **Conclusion**. Swedish cultivars ‘Sunnan’ (k-58177), ‘Canon’ (k-60992), ‘Sober’ (k-61080) ‘Dragon’ (k-61515) and ‘Dacke’ (k-63479) preserved their resistance to the powdery mildew population beginning from 1993. Spring bread wheat cultivars ‘SW Vals’ (k-64436), ‘SW Milljet’ (k-64434), ‘SW Estrad’ (k-64435), ‘SW Vinjet’ (k-64436), ‘Zebra’ (k-64707), ‘SW Kungsjet’ (k-66036), ‘SW Kronjet’ (k-66097) and ‘Boett’ (k-66353) demonstrated adult and seedling resistance in the period from 2005 to 2019.

Key words: *Triticum aestivum* L., cultivar, breeding line, susceptibility to *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*, seedling phase, adult plant phase.

Введение

Мучнистая роса причиняет серьезный вред яровым и озимым посевам мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) во многих странах Северной и Центральной Европы, а также в отдельных регионах России, вызывая стабильные эпифитотии (Everts et al., 2001; Peusha et al., 2008). Мучнистую росу вызывает гриб *Blumeria graminis* (DC.) E.O. Speer f. sp. *tritici* Em. Marchal. В цикле развития гриба имеется хорошо развитая поверхностная грибница, сумчатая и конидиальная стадии. Стелющийся мицелий полностью покрывает надземные части растения, существенно изменяя ход физиологических процессов (Bowen et al., 1991; Everts et al., 2001). Значительная вредоносность мучнистой росы обусловлена ограниченным количеством устойчивых к болезни сортов пшеницы. Преобладающее число яровых сортов относится к категории восприимчивых, что способствует ежегодному сильному развитию болезни и сохранению повышенного инфекционного фона. Постоянный мониторинг вирулентности популяций гриба, поиск новых эффективных генов устойчивости к болезни и введение их в перспективные сорта являются необходимыми этапами селекции. Изучение коллекции пшеницы Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР) дает возможность выявления новых устойчивых форм растений, необходимых для использования в современных селекционных программах. *Целью данной работы* было обобщение многолетних данных полевых и лабораторных исследований устойчивости к мучнистой росе образцов яровой мягкой пшеницы из Скандинавских стран, представленных в коллекции ВИР, а также выявление генотипов, не поражаемых патогеном на всех фазах развития.

Материалы и методы

Яровые мягкие пшеницы из Скандинавских стран в коллекции ВИР представлены 320 образцами из Швеции, Финляндии, Норвегии и Дании (табл. 1). В нашем эксперименте проанализированы многолетние данные по устойчивости к мучнистой росе 279 образцов яровой мягкой пшеницы.

Таблица 1. Число образцов яровой мягкой пшеницы из Скандинавских стран; изученных по устойчивости к мучнистой росе (Пушкин – НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР», 1961–2019 гг.)

Table 1. The number of spring bread wheat accessions from the Nordic countries tested for their resistance to powdery mildew (Pushkin and Pavlovsk Laboratories of VIR, Town of Pushkin; 1961–2019)

Происхождение	Всего образцов	Местные сорта	Селекционные		Статус неизвестен	Изучена устойчивость к мучнистой росе в поле
			линии	сорта		
Швеция	173	2	91	78	2	147
Финляндия	108	18	65	25	–	95
Норвегия	35	7	3	24	1	34
Дания	4	–	2	2	–	3
Итого	**320**	**27**	**161**	**129**	**3**	**279**

В коллекции ВИР имеется 173 образца яровой мягкой пшеницы из Швеции: 2 местных сорта (ландрасы), 91 селекционная линия, 78 сортов; для двух образцов статус не определен (см. табл. 1). Первые шведские образцы к-6166 и к-6168 поступили в коллекцию ВИР в 1922 г. из Русского сельскохозяйственного комитета Бюро растениеводства (США) от Д. Н. Бородина. Всего до 1941 г. сохранялось 14 образцов. В этот период сорта и линии поступали из шведской фирмы «Алгот-Холмберг», из селекционной фирмы «Свалеф» от селекционера А. Акермана, из Детскосельского отдела селекции ВИР от В. Е. Писарева, из Госсортсети РСФСР, когда эта организация находилась еще в здании ВИР, и из Вейбуллсхолмской селекционной станции.

В 1950–1960-е годы большинство образцов поступило в коллекцию из Свалефской и Вейбуллсхолмской селекционных станций как напрямую, так и после экспедиций ВИР, получивших селекционный материал на этих станциях. В 1961 г. экспедицию возглавляла А. Я. Трофимовская, а в 1962 г. – И. А. Сизов. В 1970–1980-е годы образцы поступали в основном из двух селекционных учреждений Швеции: Вейбуллсхолмского института селекции и Свалефской селекционной станции (Шведская семенная ассоциация). Несколько сортов было получено с Малоярославецкого сортоучастка. С 1990 г. образцы поступают в коллекцию ВИР уже из объединенной селекционной фирмы «Свалеф–Вейбулл АБ» и по выписке из Чешского генбанка (Научно-исследовательский институт растениеводства, Прага-Рузыне).

Все шведские сорта и селекционные линии яровой мягкой пшеницы, включенные в коллекцию ВИР, были созданы в двух селекционных учреждениях – Свалефской и Вейбуллской селекционных станциях, позднее, с 1993 г., – в объеденной фирме «Свалеф–Вейбулл АБ», а с 2010 г., после переименования, – в «СВ Сидз». Один сорт, ‘Сонетт’ (к-66799), включен в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию в РФ с 2017 г. в Северо-Западном регионе.

Яровые мягкие пшеницы Финляндии представлены 108 образцами: местные сорта – 18, селекционные линии – 65, селекционные сорта – 25 (см. табл. 1). Первыми в коллекцию были включены ландрасы: Местная из Лохя (к-3470) и Местная из Або (к-3474). Образцы поступили от профессора Р. Реналдера в 1913 г. Довоенные поступления финского материала были из опытной станции Таммисто, Детскосельского отдела селекции ВИР от В. Е. Писарева, Йокиойненской селекционной станции. В 1950–1960-е годы образцы поступали из Йокиойненского института селекции растений, опытной станции Таммисто, Ханккиянского института селекции растений. Экспедиции ВИР посещали эти учреждения в 1956 и 1958 г. с целью сбора селекционного и местного материала. В экспедициях принимала участие А. Я. Трофимовская.

В 1970–1980-е годы образцы были получены в основном из двух селекционных учреждений: Йокиойненского института селекции растений и Ханккиянского института селекции растений. Первый селекцентр в 1978 г. посетила экспедиция ВИР под руководством Я. С. Нестерова. По результатам экспедиции были закаталогизированы 5 селекционных линий. Несколько финских сортов яровой мягкой пшеницы получены с Малоярославецкого сортоучастка. После 1990 г. в коллекцию ВИР включен только один финский сорт – ‘Manu’ (к-66029), полученный по выписке из Чешского генбанка.

Финские селекционные сорта и линии были созданы в четырех селекционных учреждениях: Ханккиянском институте селекции растений, опытной станции Таммисто, Бореальской селекционной фирме, Йокиойненском институте селекции растений. Сорт 'Ruso' (к-45943) находится в районировании в Северо-Западном регионе РФ с 1978 г.

ВИР сохраняет 35 образцов из Норвегии. Сорта 'Serdal' (к-14668) и 'Messel' (к-14669) поступили в коллекцию в 1926 г. от Кнута Вика (через В. Е. Писарева). До 1941 г. образцы получали из двух селекционных учреждений страны: опытной станции в г. Форус и государственной опытной фермы в г. Хиеллум. Всего довоенная коллекция включает 15 образцов.

В 1950–1970-е годы коллекция норвежских сортов сформировалась главным образом за счет экспедиции А. Я. Трофимовской в 1959 г., которая собрала ценный материал из основных селекционных учреждений Норвегии. Образцы поступали также из государственной опытной фермы в г. Мойстад, государственной опытной фермы в г. Мохолтан, сельскохозяйственного колледжа Норвегии в Воллебеке, Стаурской опытной станции, опытной станции в г. Квитамар. В 2014 г. сорт 'Bastian' (к-66441) получен по выписке из Чешского генбанка.

По статусу образца коллекция норвежских сортов яровой мягкой пшеницы представлена следующим образом: местные сорта – 7, селекционные линии – 3, селекционные сорта – 24; для одного образца статус не определен (см. табл. 1). Норвежские сорта яровой мягкой пшеницы были созданы в следующих селекционных учреждениях: государственном научном центре в г. Тронхейме, сельскохозяйственном колледже в г. Воллебеке, государственной опытной ферме в г. Мойстаде, Норвежском аграрном университете, правительственной зерновой корпорации, институте генетики и селекции.

Датские сорта яровой мягкой пшеницы представлены в коллекции ВИР четырьмя образцами, три из которых получены из государственной экспериментальной станции в г. Тылструп в 1975 г., а один образец поступил из фирмы «Сиэт-Селекция» в 1984 г. Коллекция состоит из двух селекционных сортов и двух линий (см. табл. 1).

Полевое изучение устойчивости образцов пшеницы проводили на экспериментальном поле научно-производственной базы (НПБ) «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» (ППЛ ВИР, Санкт-Петербург, Пушкин) в 1961–2019 гг. В опытах использована общепринятая агротехника возделывания яровой мягкой пшеницы. Посев образцов проводили в оптимальные сроки на делянках площадью 1 м^2. Стандартными сортами были 'Диамант', 'Ленинградка', 'Ленинградская 97' и 'Ленинградская 6', а также сильно восприимчивый к мучнистой росе образец 'Сибирка Ярцевская'. Инокулюмом для заражения растений служила природная популяция гриба.

Взрослые растения пшеницы оценивали дважды – в фазы «колошение» и «цветение». В этот период инфекция в поле образуется обильно и развитие болезни идет интенсивно. Проявление заболевания на естественном фоне фиксировали, используя шкалы учета, описанные в методических указаниях по изучению мировой коллекции пшеницы (Dorofeev et al., 1977; Merezhko, 1999). К классу устойчивых (R) относили растения, поражение которых грибом составляло 9 и 7 баллов, к умеренно устойчивым (MR) – 5 баллов, умеренно восприимчивым (MS) – 3 и восприимчивым (S) – 1 балл.

Реакцию сортов в ювенильной стадии на заражение грибом изучали в контролируемых условиях (Krivchenko et al., 2008). Показателями проявления заболевания растений мучнистой росой были интенсивность спороношения и качественные реакции тканей растений в ответ на внедрение патогена (хлорозы, некрозы). К классу устойчивых (R) относили растения, поражение которых соответствовало 0 и 1 баллу, умеренно устойчивых (MR) – 2 балла, умеренно восприимчивых (MS) – 3 балла и восприимчивых (S) – 4 балла. Реакции растений, поражение которых соответствовало баллам 0, 1 и 2 проверяли трехкратно.

Климат Пушкинского района г. Санкт-Петербурга умеренный, переходный от морского к континентальному. Для района характерна высокая влажность, переменчивая и пасмурная погода с умеренно-холодной зимой и нежарким летом. На рисунках 1–3 приведены среднемноголетние значения основных метеорологических показателей для ППЛ ВИР. Данные предоставлены Л. Ю. Новиковой – руководителем отдела автоматизированных информационных систем генетических ресурсов растений ВИР. Среднемноголетние значения климатических показателей по периодам рассчитаны по методике Всемирной метеорологической организации (WMO Guidelines..., 2017).

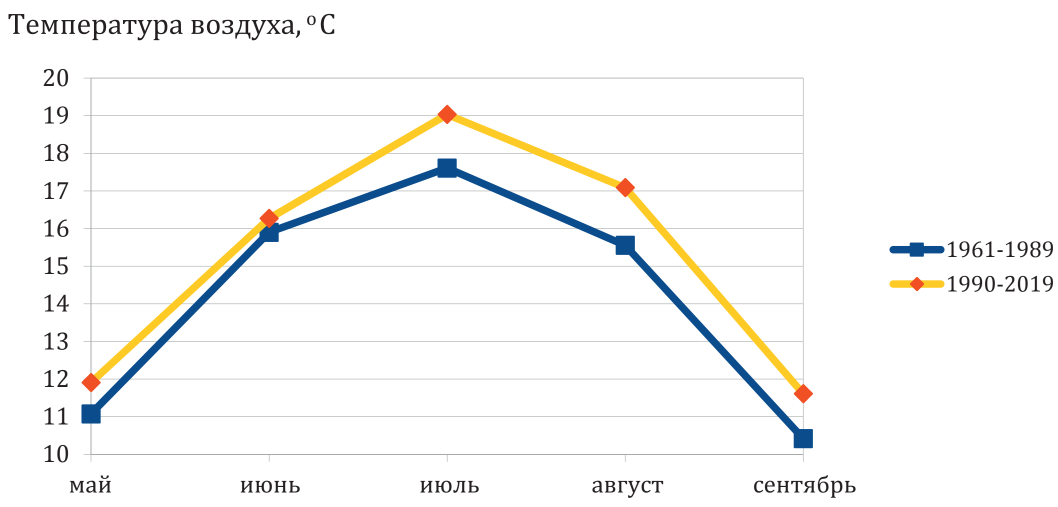


Рис. 1. Среднемноголетние данные среднемесячной температуры воздуха (Пушкин, 1961–2019 гг.)
Fig. 1. Mean monthly air temperature data for many years (Pushkin, 1961–2019)

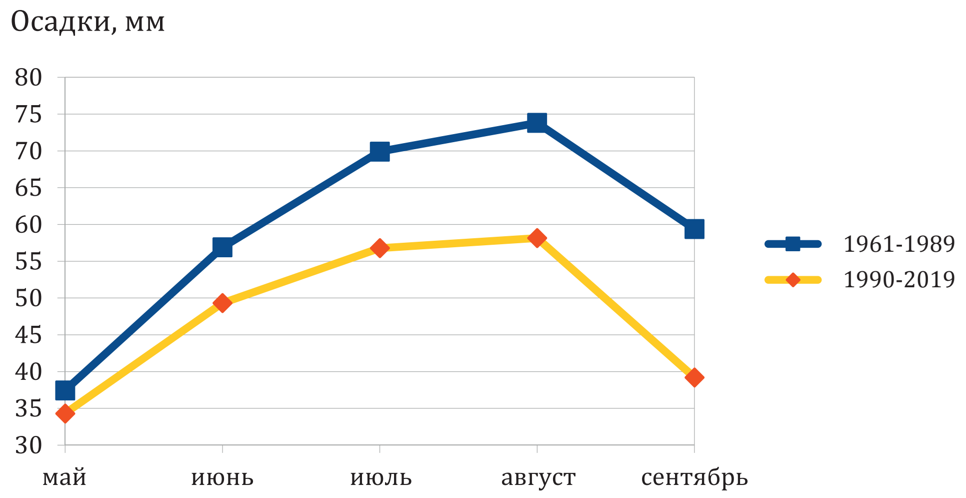


Рис. 2. Среднемноголетние данные по количеству выпавших осадков (Пушкин, 1961–2019 гг.)
Fig. 2. Mean monthly precipitation data for many years (Pushkin, 1961–2019)

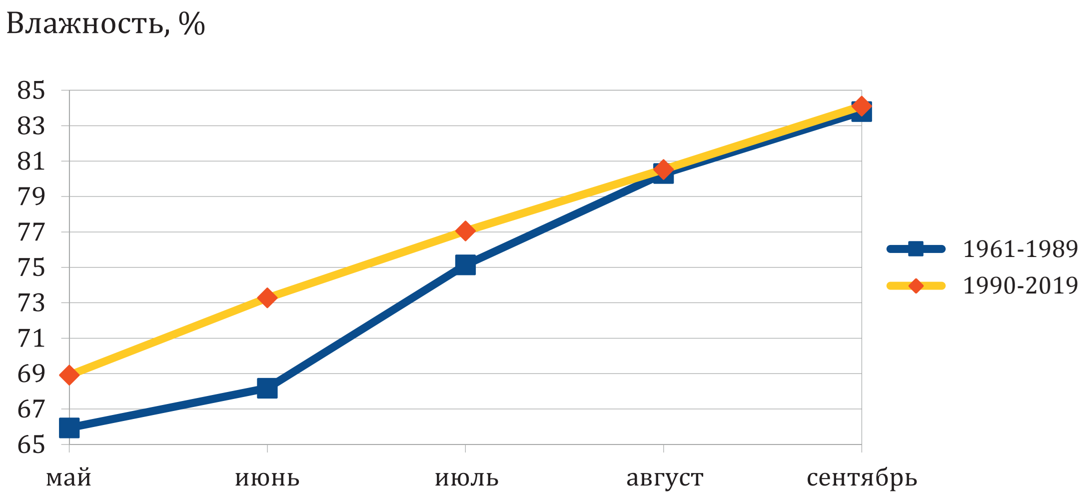


Рис. 3. Среднемноголетние данные по относительной влажности воздуха (Пушкин, 1961–2019 гг.)
Fig. 3. Mean monthly relative humidity data for many years (Pushkin, 1961–2019)

С 1990 по 2019 г. наблюдается тенденция к увеличению среднемесячных температур воздуха, уменьшению количества выпавших осадков и увеличению относительной влажности воздуха в течение вегетационного периода яровой мягкой пшеницы.

Климатические условия г. Пушкина благоприятны для развития грибных болезней. Оптимальными для прорастания конидий мучнистой росы являются высокая относительная влажность воздуха (60–100%) и умеренная температура (16–22°С).

Результаты и обсуждение

Анализ проявления мучнистой росы с 1961 по 2019 г. показал следующие результаты: сильное поражение яровой мягкой пшеницы наблюдали в 1961, 1963–1965, 1968, 1983, 1987, 1989, 2007, 2012, 2015–2019 гг.; среднее – в 1962, 1966, 1967, 1969, 1970–1975, 1977, 1981, 1982, 1984–1986, 1990, 1991, 1993, 1994, 1999, 2000, 2002, 2006, 2008–2011, 2013, 2014 г.; слабое – в 1988, 1992, 2001, 2003–2004 гг. В годы сильного проявления мучнистой росы температура воздуха в последней декаде июня и в течение всего июля (время учета поражения растений болезнью) была ниже средней, относительная влажность воздуха – выше средней. В годы, когда мучнистая роса проявлялась слабо, температуру регистрировали выше средней, относительная влажность была пониженной, осадков выпадало очень мало.

В таблице 2 представлено число лет изучения устойчивости к мучнистой росе образцов яровой мягкой пшеницы из Скандинавских стран в условиях ППЛ ВИР. Однолетние данные были исключены из анализа. Коллекции из Швеции, Финляндии, Норвегии и Дании оценивали по устойчивости к болезни в течение 2–8 лет. Наиболее пристально исследовали сорта из Швеции: ‘Svenno’ (к-42656) – в течение 18 лет, ‘Diamant’ (к-25019) – 17 лет; Финляндии: ‘Ta 3332’ (к-42928) – 16 лет, ‘Apu’ (к-41961) – 15 лет, ‘Ruso’ (к-45943) – 14 лет; Норвегии: ‘As II’ (к-44701) – 16 лет, ‘Nora’ (к-43714) – 14 лет, ‘Rollo’ (к-46567), ‘Norrona’ (к-43221), ‘Lade’ (к-45137) – 13 лет.

Таблица 2. Степень изученности образцов яровой мягкой пшеницы по устойчивости к мучнистой росе (Пушкин, 1961–2019 гг.)

Table 2. The level of knowledge acquired on the responses of Nordic spring bread wheat accessions to powdery mildew (Pushkin, 1961–2019)

Происхождение	**Число лет изучения устойчивости к мучнистой росе**					
	1 год	**2–4 года**	**5–8 лет**	**9–13 лет**	**14–18 лет**	**Всего образцов**
Швеция	44	51	24	26	2	147
Финляндия	5	36	35	16	3	95
Норвегия	1	3	16	12	2	34
Дания	-	3	-	-	-	3
Всего	**50**	**93**	**75**	**54**	**7**	**279**

Многолетние исследования сортов Скандинавии в фазах «колошение» и «цветение» показали, что 81 образец (29,0%) из 279 проанализированных устойчив к пушкинской популяции возбудителя мучнистой росы (табл. 3). Большинство устойчивых к болезни образцов (70) наблюдали среди шведских пшениц. Основная часть образцов, исследованных в полевых условиях, относилась к умеренно устойчивой и умеренно восприимчивой группам. Интересно отметить, что лишь восемь скандинавских образцов оказались восприимчивы к болезни. Местные стародавние сорта в результате непрерывных отборов в поле обладали определенной степенью устойчивости к мучнистой росе. Поражению яровой мягкой пшеницы грибными болезнями в сельском хозяйстве Скандинавии всегда уделялось внимание. Местные стародавние сорта обладали умеренной устойчивостью к мучнистой росе, но были малопродуктивны. Культивирование умеренно пораженных болезнью сортов решало проблему равновесия авирулентных и вирулентных генов в популяции гриба. В последующие десятилетия для повышения продуктивности широко использовалась гибридизация местных сортов с сортами других стран. Параллельно с этим процессом происходило внедрение расоспецифических генов устойчивости в скандинавские сорта и, как следствие, перманентные изменения в составе популяции гриба (Hysing et al., 2008).

В таблице 4 представлены сорта Скандинавии, которые проявляли устойчивость к заболеванию в полевых условиях с 1961 по 2018 г. В связи с изменениями, происходящими в популяции гриба, часть сортов на сегодняшний день оказалась восприимчива к болезни. С 1990-х годов потеряли устойчивость сорта из Швеции – ‘Rang’ (к-47098), ‘Drabant’ (к-50846), ‘Sappo’ (к-52362), ‘Tilly’ (к-52785), ‘Trippel’ (к-54222), ‘Walter’ (к-54585), ‘Kadett’ (к-57724); Финляндии – ‘Ulla’ (к-54216), ‘Jo 8187’ (к-59593); Дании – ‘Capa’ (к-55141). Обращают на себя внимание шведские сорта ‘Canon’ (к-61222), ‘Dragon’ (к-61515) и ‘Dacke’ (к-63479), сохранявшие устойчивость к болезни с 1993 по 2013 г.

В годы изучения устойчивости к мучнистой росе (1970–2019 гг.) наблюдали изменения в составе пушкинской популяции гриба: появились изоляты, вирулентные к большинству образцов, защищенных идентифицированными генами устойчивости мягкой пшеницы. В 1970 г. в нашем распоряжении для характеристики популяции гриба имелись лишь два устойчивых сорта с известной генетической характеристикой: ‘Weichenstephaner M’ (к-46745, Германия) с геном *Mle*, обозначенным позднее как *Pm4b*, и ‘Halle 13471’ (к-46590, Германия) с геном *Mld*. Единичные хорошо развитые пустулы на сорте ‘Weichenstephaner M’ были замечены нами в конце 70-х гг. прошлого века, позднее стал поражаться и сорт ‘Halle 13471’. В дальнейшем отмечали наличие генов ви-

Таблица 3. Распределение по устойчивости к мучнистой росе образцов яровой мягкой пшеницы из Скандинавских стран (Пушкин, 1961–2019 гг.)

Table 3. Distribution of spring bread wheat accessions from the Nordic countries according to their resistance to powdery mildew (Pushkin, 1961–2019)

Происхождение	**Число образцов**			
	устойчивые	**умеренно устойчивые**	**умеренно восприимчивые**	**восприимчивые**
Швеция	70	41	35	1
Финляндия	7	22	60	6
Норвегия	4	9	20	1
Дания	–	3	–	–
Всего	**81**	**75**	**115**	**8**

Таблица 4. Образцы яровой мягкой пшеницы, устойчивые к пушкинской популяции возбудителя мучнистой росы (Пушкин)

Table 4. Spring bread wheat accessions resistant to the Pushkin population of the powdery mildew agent (Pushkin)

Номер по каталогу ВИР	Образец	Происхождение	Период изучения	Устойчивость, балл
Образцы, устойчивые в 1970–1980 гг.				
50378	Weibulls 11276	Швеция	1972, 1977	7
52309	Kadett	Швеция	1981, 1983, 1984, 1987	7
52363	W-N RQ-50	Швеция	1975, 1977	7
52365	WW 16062	Швеция	1977, 1981	9
52781	Fero	Швеция	1972, 1977	7
52792	WW 16161	Швеция	1977, 1987	9
52793	WW 15962	Швеция	1977, 1982	7
52797	WW 13523	Швеция	1977, 1981, 1982	7
52798	Varvete 11691	Швеция	1974, 1975, 1977, 1981	7
54585	Walter	Швеция	1981, 1982	7
54587	Sv.66342	Швеция	1974, 1975	7
57741	WW 19179	Швеция	1986, 1987	7
59434	Hja 23145	Финляндия	1988, 1989	7
59439	Hja 23654	Финляндия	1988, 1989	7
Образцы, устойчивые в 1990–2000 гг.				
61060	Solvent	Швеция	1989, 1991	7
61080	Sober	Швеция	1989, 1991	7
Образцы, устойчивые в настоящее время				
61222	Canon	Швеция	1993, 2012, 2013	7
61515	Dragon	Швеция	1993, 2012, 2013	7
63479	Dacke	Швеция	1999, 2000, 2012, 2013	7
64433	SW Vals	Швеция	2004, 2005, 2012–2019	9
64434	SW Milljet	Швеция	2004, 2005, 2012–2019	9
64435	SW Estrad	Швеция	2004, 2005, 2012–2019	9
64436	SW Vinjett	Швеция	2004, 2005, 2012–2019	7
66096	Swedjet	Швеция	2015–2019	7

рулентности к *Pm1*, *Pm2*, *Pm3a-c* в местной популяции гриба. Линии и сорта с доминантным геном *Pm6* оставались устойчивыми в наших опытах до конца 90-х годов прошлого века (Lebedeva, Krivchenko, 1988; Hsam, Zeller, 2002; Lebedeva et al., 2018).

В настоящее время в пушкинской популяции гриба присутствуют клоны, вирулентные к генам устойчивости мягкой пшеницы *Pm1a*, *Pm2*, *Pm3a-d*, *Pm4a-b*, *Pm5*, *Pm6*, *Pm7*, *Pm8*, *Pm9*, *Pm16*, *Pm17*, *Pm19* и авирулентные к *Pm12*.

В 2012–2013 гг. для проверки сохранения устойчивости к мучнистой росе изучили 105 скандинавских образцов яровой мягкой пшеницы. Анализ устойчивости взрослых растений к популяции гриба в год повышенного инфекционного фона (2012) выявил 17 (16,2%) резистентных сортов, 34 (32,4%) умеренно устойчивых, 19 (18,1%) умеренно восприимчивых и 35 (34,3%) восприимчивых к болезни,

В 2018–2019 гг. этот же набор образцов из Скандинавии оценили по устойчивости к популяции мучнистой росы в стадии проростков. В ювенильной фазе восприимчивым (S) и умеренно восприимчивым (MS) был 71 образец (67,62%), умеренно устойчивыми (MR) – 9 (8,57%), устойчивыми (R) – 25 образцов (23,81%). Выявлен ряд сортов, сохраняющих невосприимчивость к популяции гриба на всех фазах роста. Результаты анализа показали, что образцы, устойчивые к болезни в проростках, могут поражаться на последующих фазах развития: 'Sonett' (к-52333), 'Kadett' (к-57724), 'Boru' (к-61059), 'Drabant' (к-50846), 'Trippel' (к-54222), 'Tapio' (к-57059) 'Timmo' (к-57073), 'Vitus' (к-58760) (табл. 5).

Устойчивость к патогену некоторых скандинавских сортов была изучена методами фитопатологического и гибридологического анализа (Hsam et al., 2002; Hysing et al., 2008; McIntosh et al., 2003, 2017; Peusha et al., 1996, 2000, 2008; Lebedeva et al., 2018). В этих работах приводятся данные о генах устойчивости к мучнистой росе

у сортов из Швеции:

'Ring' (к-44779) – *Pm1a*, *Pm2*, *Pm9*; 'Pompe' (к-46563) – *Pm1a*, *Pm2*, *Pm9*; 'Troll' (к-47096) – *Pm1a*, *Pm2*, *Pm9*; 'Rang' (к-47098) – *Pm1a*, *Pm2*, *Pm4b*, *Pm9*; 'Drabant' (к-50846) –

Таблица 5. Устойчивость к мучнистой росе скандинавских образцов яровой мягкой пшеницы на разных фазах развития растений (Пушкин)

Table 5. Powdery mildew resistance in Nordic accessions of spring bread wheat in different phases of plant development (Pushkin)

Номер по каталогу ВИР	Образец	Происхождение	Устойчивость, балл	
			взрослых растений в 2012 и 2013 г.	Проростков в 2018 и 2019 г.
50846	Drabant	Швеция	3	0
52333	Sonett	Швеция	5	0
54222	Trippel	Швеция	1	1
57059	Tapi'	Финляндия	3	0
57073	Timmo	Швеция	3	1
57724	Kadett	Швеция	5	1
58177	Sunnan	Швеция	7	0
58760	Vitus	Дания	3	0
61059	Boru	Швеция	5	0
61221	Sober	Швеция	7	0
61222	Canon	Швеция	9	1
61515	Dragon	Швеция	9	1
63479	Dacke	Швеция	9	1
64433	SW Vales	Швеция	9	0
64434	SW Milljet	Швеция	9	0
64435	SW Estrad	Швеция	9	0
64436	SW Vinjett	Швеция	7	1
64707	Zebra	Швеция	7	0
66036	SW Kungsjet	Швеция	9	0
66095	Lavett	Швеция	7	1
66096	Swedjet	Швеция	7	1
66097	SW Kronjet	Швеция	7	0
66098	SW Kadrilj	Швеция	7	0
66353	Boett	Швеция	9	0
66799	Сонетт	Швеция	7	1

Pm2, *Pm4b*, *Pm6*; 'Sonett' (к-52333) – *Mld*; 'Sappo' (к-52362) – *Pm1a*, *Pm2*, *Pm4b*, *Pm6*; 'Walter' (к-54585) – *Pm1*, *Pm2*, *Pm4b*; 'Timmo' (к-57073) – *Pm1*, *Pm2*, *Pm4b*, *Pm6*; 'Kadett' (к-57724) – *Pm3d*, *Pm4b*; 'Saffran' (к-57725) – *Pm1a*, *Pm2*, *Pm8*, *Pm9*; 'Sunnan' (к-58177) – *Pm1*, *Pm2*, *Pm6*; 'William' (к-58758) – *Pm1*, *Pm4b*, *Pm6*; 'Nemares' (к-61174) – *Pm1*, *Pm2*; 'Canon' (к-61222) – *Pm1*, *Pm2*, *Pm6*; 'Dragon' (к-61515) – *Pm1*, *Pm4b*, *Pm5*, *Pm6*; 'Tjalve' (к-61516) – *Pm3d*, *Pm4*; 'SW Estrad' (к-64435) – *Pm3d*; 'SW Vinjett' (к-64436) – *Pm3d*; 'Zebra' (к-64707) – *Pm3d*; 'Lavett' (к-66095) – *Pm3d*, *Pm4b*; 'Polkka' (к-66715) – *Pm3f*;

у сортов из Норвегии: 'As II' (к-44701) – *Pm1a*; 'Runar' (к-57055) – *Pm4b*; 'Reno' (к-57056) – *Pm4b*; 'Tautra' (к-57067) – *Pm5*, *Pm6*; 'Bastian' (к-66441) – *Pm3d*;

у сортов из Финляндии: 'Ulla' (к-54216) – *Pm1*; 'Tapio' (к-57059) – *Pm3d*; 'Manu' (к-66029) – *Pm4b*;

у сорта из Дании: 'Vitus' (к-58760) – *Pm3d*.

Таким образом, у скандинавских сортов яровой мягкой пшеницы идентифицированы гены устойчивости к мучнистой росе *Pm1*, *Pm2*, *Pm3d*, *Pm3f*, *Pm4b*, *Pm5*, *Pm6*, *Pm8*, *Pm9*. По нашим данным (Lebedeva et al., 2018), устойчивость к болезни шведских сортов 'SW Vals' (к-64433), 'SW Milljet' (к-64434), 'SW Vinjett' (к-64436) не контролируется доминантным геном *Pm12*.

Устойчивость скандинавских сортов в ювенильной фазе контролируется идентифицированными генами пшеницы, к которым популяция мучнистой росы имеет гены вирулентности, и не идентифицированными факторами устойчивости. Известно, что у ряда сортов сохраняется защита от болезни после преодоления устойчивости, контролируемой главными генами. Использование единичных главных генов обычно не обеспечивает долговременную защиту от болезни, но некоторые их комбинации в сочетании с генами-модификаторами могут быть эффективны. По литературным сведениям, в Швеции до 1920 г. 41% местных форм (ландрас) имели умеренную проростковую устойчивость, а 95% были умеренно устойчивы в поле (Hysing et al., 2008). Можно предположить, что устойчивость сортов контролировали гены с малым эффектом и аккумуляция их обеспечивала неспецифическую, долговременную защиту от мучнистой росы. Возможно, такая неспецифическая основа сохранилась в современных сортах, созданных на базе местных сортов.

Заключение

Многолетние исследования сортов и линий яровой мягкой пшеницы из Скандинавских стран в фазах «колошение» и «цветение» показали, что 81 образец (29,0%) из 279 проанализированных были устойчивы к пушкинской популяции возбудителя мучнистой росы в период с 1961 по 2019 г. Установлено, что современные скандинавские сорта яровой мягкой пшеницы устойчивы к популяции *B. graminis* как в ювенильной фазе, так и во взрослом состоянии и сохраняют устойчивость с 2005 г. Это яровые сорта 'Sunnan', 'Sober', 'SW Vals', 'SW Milljet', 'SW Estrad', 'SW Vinjett', 'Zebra', 'SW Kungsjet', 'SW Kronjet', 'Boett'. Представляют интерес для селекции созданные в 1970–1980 гг. сорта 'Canon', 'Dragon', 'Dacke', которые и до настоящего времени в условиях Ленинградской области характеризуются устойчивостью к болезни.

Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0662-2020-0006 «Поиск, поддержание жизнеспособности и раскрытие потенциала наследственной изменчивости мировой коллекции зерновых и крупяных культур ВИР для развития, оптимизированного генбанка и рационального использования в селекции и растениеводстве».

The research was performed within the framework of the State Task according to the theme plan of VIR, Project No. 0662-2020-0006 "Search For and Viability Maintenance, 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."

References/Литература

Bowen K.L., Everts K.L., Leath S. Reduction in yield of winter wheat in North Carolina due to powdery mildew and leaf rust. *Phytopathology*. 1991;82(5):503-511. DOI: 10.1094/Phyto-81-503

Dorofeev V.F., Rudenko M.I., Shitova I.P., Korneichuk V.A. Guidelines for the study of the world wheat collection (Metodicheskiye ukazaniya po izucheniyu mirovoy kollektsii pshenitsi). Leningrad: VIR; 1977. [in Russian] (Дорофеев В.Ф., Руденко М.И., Шитова И.П., Корнейчук В.А. Методические указания по изучению мировой коллекции пшеницы. Ленинград: ВИР; 1977).

Everts K.L., Leath S., Finney P.L. Impact of powdery mildew and leaf rust on milling and baking quality of soft red winter wheat. *Plant Disease*. 2001;85(4):423-429. DOI: 10.1094/pdis.2001,85.4.423

Hsam S.L.K., Zeller F.J. Breeding for powdery mildew resistance in common wheat (*Triticum aestivum* L.) In: R.R. Bélanger, W.R. Bushell, A.J. Dik, T.L.W. Carver (eds). *The powdery mildews. A comprehensive treatise*. St. Paul, Minnesota: APS Press; 2002. p.219-238.

Hysing S.C., Merker A., Liljeroth E., Koebner R.M.D., Zeller F.J., Hsam S.L.K. Powdery mildew resistance in 155 Nordic bread wheat cultivars and landraces. *Hereditas*. 2008;144(3):102-119. DOI: 10.1111/j.2007.0018-0661.01991.x

Krivchenko V.I., Lebedeva T.V., Peusha H.O. Powdery mildew of cereals (Muchnistaya rosa zlakov). In: *The study of cereal crop genetic resources for resistance to harmful organisms: A guide* (*Izucheniye geneticheskikh resursov zernovykh kultur po ustoychivosti k vrednym organizmam. Metodicheskoye posobiye*). Moscow; 2008. p.86-105. [in Russian] (Кривченко В.И. Лебедева Т.В., Пеуша Х.О. Мучнистая роса злаков. В кн.: *Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам: Методическое пособие.* Москва; 2008. С.86-105).

Lebedeva T.V., Krivchenko V.I. Powdery mildew resistance in bread wheat line Weihenstephan M1. (Ustoychivost linii myagkoy pshenitsy Weihenstephan M1 k muchnistoy rose [*Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*]). *Bulletin of VIR.* 1988;177:70-71. [in Russian] (Лебедева Т.В., Кривченко В.И. Устойчивость линии мягкой пшеницы Weihenstephan M1 к мучнистой росе (*Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*). *Бюллетень ВИР.* 1988;177:70-71).

Lebedeva T.V., Zuev E.V. Inheritance of powdery mildew resistance in selected spring wheat accessions from the VIR collection. *Vavilovia*. 2018;1(1):18-24. [in Russian] (Лебедева Т.В., Зуев Е.В. Наследование устойчивости к мучнистой росе у некоторых образцов яровой мягкой пшеницы из коллекции ВИР. *Vavilovia*. 2018;1(1):18-24). DOI: 10.30901/2658-3860-2018-1-18-24

McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers W.J., Morris C., Xia X.C. Catalogue of gene symbols for wheat: 2017. Supplement. Available from: https://shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene/supplement2017.pdf (accessed Apr. 14, 2020).

McIntosh R.A., Yamazaki Y., Devos K.M., Dubcovsky J., Rodgers W.J., Apples R. Catalogue of gene symbols for wheat. In: N.E. Pogna, M. Romano, E.A. Pogna, G. Galterio (eds.). *Proceedings of the 10th International. Wheat Genetics Symposium*. Paestum, Italy; 2003.

Merezhko A.F. (ed.). Replenishment, preservation *in vivo* and study of the world collection of wheat, *Aegilops* and triticale: Methodological guidelines (Popolneniye, sokhraneniye v zhivom vide i izucheniye mirovoy kollektsii pshenitsy, egilopsa i tritikale: Metodicheskiye ukazaniya). St. Petersburg: VIR; 1999. [in Russian] (Пополнение, сохранение в живом виде и изучение мировой коллекции пшеницы, эгилопса и тритикале: Методические указания / под ред. А.Ф. Мережко. Санкт-Петербург: ВИР; 1999).

Peusha H., Enno T., Priilinn O. Chromosomal location of powdery mildew resistance genes and cytogenetic analysis of meiosis in common wheat cultivar Meri. *Hereditas*. 2000;132(1):29-34. DOI: 10.1111/j.1601-5223.2000.00029.x

Peusha H., Enno T., Yakobson I., Tsombalova J., Ingver A., Yärve K. Powdery mildew resistance of Nordic spring wheat cultivars grown in Estonia. *Acta. Agriculturae Scandinavica, Section B – Soil and Plant Science*. 2008;58(4):289-296. DOI: 10.1080/09064710701706242

Peusha H., Hsam S.L., Enno T., Zeller F.J. Identification of powdery mildew resistance in common wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell.) VII. Cultivars and advanced breeding lines grown in Finland. *Hereditas*.1996;124(1):91-93. DOI: 10.1111/j.1601-5223.1996.00091.x

WMO Guidelines on the Calculation of Climate Normals. No. 1203. World Meteorological Organization; 2017. Available from: https://library.wmo.int/doc_num.php?explnum_id=4166 (accessed Apr. 07, 2020).

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

Лебедева Т.В., Брыкова А.Н., Зуев Е.В. Устойчивость к мучнистой росе скандинавских образцов яровой мягкой пшеницы из коллекции ВИР. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции.2020;181(3):146-154.DOI:10.30901/2227-8834-2020-3-146-154

Lebedeva T.V., Brykova , Zuev E.V. Powdery mildew resistance of Nordic spring bread wheat accessions from the collection of the Vavilov Institute (VIR). Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding.2020;181(3):146-154.DOI:10.30901/2227-8834-2020-3-146-154

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/10.30901/2227-8834-2020-3-146-154

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

Lebedeva T.V. https://orcid.org/0000-0003-2344-9233

Brykova A.N. https://orcid.org/0000-0002-2215-5068

Zuev E.V. https://orcid.org/0000-0001-9259-4384

Comparative analysis of the DNA isolated from thyme leaves using different methods

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-155-162

УДК 633.81: 581.8:57.113
Поступление/Received: 30.06.2020
Принято/Accepted: 21.09.2020

Сравнительный анализ ДНК, выделенной из листьев чабреца разными способами

I. V. BULAVIN*, O. A. GREBENNIKOVA, V. A. BRAILKO, S. A. FESKOV, I. V. MITROFANOVA

The Nikita Botanical Gardens – National Scientific Center of the RAS,
52 Nikitsky Spusk, Nikita, Yalta, Republic of Crimea 298648, Russia
**labgennbs@yandex.ru; oksanagrebennikova@yandex.ua; valentina.brailko@yandex.ru; sergey.feskoff@yandex.ua; irimitrofanova@yandex.ru*

И. В. БУЛАВИН*, О. А. ГРЕБЕННИКОВА, В. А. БРАИЛКО, С. А. ФЕСЬКОВ, И. В. МИТРОФАНОВА

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН,
298648 Россия, Республика Крым, г. Ялта, пгт Никита, Никитский спуск, 52
**labgennbs@yandex.ru; oksanagrebennikova@yandex.ua; valentina.brailko@yandex.ru; sergey.feskoff@yandex.ua; irimitrofanova@yandex.ru*

Background. The base for a molecular analysis is DNA of high quality. For DNA isolation, different kits or classical methods are used. For mass analysis, isolation with kits is a very expensive process. So, the objective of our investigation was to find a cheap method for high-quality DNA isolation from leaves of various thyme cultivars. **Materials and methods.** Leaves cut from thyme accessions (*Thymus mastichina* L. cv. 'Svetliachok', *T. striatus* Vahl. cv. 'Jubileiniy', *T. vulgaris* L. cv. 'Fantasia', and *T. vulgaris* cv. 'Jalos'.) maintained *ex situ* in the collection of the Nikita Botanical Gardens were used as the material for the analysis. Light microscopy was used to study leaf anatomy and localize essential oil on leaf cross sections. Essential oil was extracted on Ginsberg devices, and phenolic content was measured with The Folin–Ciocâlteu reagent (FCR). Commercial kits (DiamondDNA™, PureLink® Plant Total DNA Purification Kit) and classical methods (CTAB, CTAB with 2% polyvinylpyrrolidone) were used for DNA isolation. DNA quality was evaluated spectrophotometrically, with electrophoresis (horizontal, automated system Agilent 4200 TapeStation) and PCR. **Results.** The analysis showed that the leaf blade mesophyll of four thyme cultivars had inclusions with essential oil. The content of essential oil and phenolic compounds was measured biochemically. Since the plants were characterized by the presence of secondary metabolites, DNA was isolated by different methods. Spectrophotometry demonstrated that the classical CTAB method and CTAB with 2% PVP provided the best results. Using an automated electrophoresis system, the presence of high-molecular-weight DNA (more than 52000 bp) in significant amounts was detected in the samples isolated with DiamondDNA™ kit and CTAB + 2% PVP. **Conclusion.** Among the tested kits and methods, CTAB + 2% PVP provided thyme DNA suitable for PCR and, presumably, for genome library preparation. The low cost of reagents for this technique makes it applicable for future mass analysis of plant material.

Key words: *Thymus*, cultivars, leaves, essential oil, phenols, DNA isolation.

Актуальность. Основой молекулярного анализа является ДНК высокого качества. Для ее выделения используют разные наборы или классические способы. Массовый анализ ДНК, при ее выделении с помощью наборов является дорогостоящим процессом. Поэтому целью нашего исследования был поиск относительно недорогого способа выделения ДНК хорошего качества из листьев разных сортов чабреца. **Материалы и методы.** Для исследований использовали листья растений чабреца (*Thymus mastichina* L. сорт 'Светлячок', *T. striatus* Vahl. сорт 'Юбилейный', *T. vulgaris* L. сорт 'Фантазия', *T. vulgaris* сорт 'Ялос'), культивируемые в коллекции Никитского ботанического сада. С использованием световой микроскопии на поперечных срезах листьев изучали анатомическое строение органов, локализацию включений с эфирным маслом. Эфирное масло извлекали на аппаратах Гинзберга, фенольные соединения определяли с помощью реагента Фолина – Чокальтеу. ДНК выделяли с применением коммерческих наборов и классических способов с цетилтриметиламмоний бромидом (ЦТАБ) и поливинилпирролидоном (ПВП). Качество ДНК оценивали спектрофотометрически, с помощью электрофореза и ПЦР. **Результаты.** В мезофилле листовой пластинки четырех сортов чабреца выявляли включения с эфирным маслом. Содержание эфирного масла и фенольных соединений варьировало между сортами. Спектрофотометрический анализ показал, что классический способ с ЦТАБ и добавлением 2% ПВП позволяет получить ДНК хорошего качества длиной более 52000 пн. **Заключение.** Среди исследованных наборов и способов, ЦТАБ + 2% ПВП обеспечивал необходимый выход и качество ДНК, подходящей не только для ПЦР, но и, предположительно, для подготовки геномных библиотек. Относительно недорогие реагенты для этого метода делают его пригодным для будущего массового анализа растительного материала.

Ключевые слова: *Thymus*, сорта, листья, эфирное масло, фенолы, выделение ДНК.

Introduction

Essential oils are volatile oily liquids with a characteristic strong smell that accumulates during secondary metabolism in the inflorescences at higher concentration as well as in other vegetative organs, epidermal structures and different internal tissues but in smaller amount (Rehman et al., 2016; Sharifi-Rad et al., 2017). In plants, they are utilized for fertilization, protection from fungal attacks or as antimicrobial components, irritant or repellant (Naeem et al., 2018). Because of their biological activity, such as antimicrobial and anti-inflammatory, essential oils have been used for medical purposes since ancient times (Sharifi-Rad et al., 2017). Currently they are also used in perfumes, cosmetics and food industry (Dhifi et al., 2016; Pashtetskiy et al., 2017). In the Nikita Botanical Gardens (NBG), the collection of aromatic and medicinal plants is represented by 108 genera, 315 species, subspecies, forms, cultivars and hybrids belonging to 34 families. Plants of the families Lamiaceae Martinov and Asteraceae Bercht. & J. Presl are most widely represented in the collection, amounting to 24 and 20% of the total number of accessions, respectively. The Lamiaceae family has 26 genera and 75 species. Among them, the genus *Thymus* L. includes 12 species: *Thymus* sp., *T. nitens* Lamott., *T. pulegioides* L., *T. striatus* Vahl., *T. mastichina* L., *T. helendzhicus* Klokov & Des.-Shost., *T. comosus* Heuffel ex Iriseb., *T. kotschyanus* Boiss. et Hohen., *T. vulgaris* L., *T. serpyllum* L., *T. roegneri* K. Koch, and *T. richardii* subsp. *nitidus* (Guss.) Jalas (Marko et al., 2018). Breeding of essential oil plants in the NBG includes the development of drought-tolerant, high-oleic cultivars, different chemotypes, and high-quality perfumery plants with a high mass fraction of the main components in essential oil (Plugatar, Shevchuk, 2019). Their ornamental characteristics are also taken into consideration. Further breeding implies knowledge of the genetic differences between cultivars. The base for a molecular analysis is DNA of high quality (Tiwari et al., 2107; Bulavin et al., 2019a). For DNA isolation, different kits or classical methods are used. For mass analysis, isolation by kits is a very expensive process (Afsharzadeh, Abbasi, 2016; Fu et al., 2017). So, the objective of our investigation was to search for a cheap technique for the isolation of DNA with good yield and quality.

Materials and methods

Leaves of *Thymus* plants (*T. mastichina* cv. 'Svetliachok', *T. striatus* cv. 'Jubileiniy', *T. vulgaris* cv. 'Fantasia', and *T. vulgaris* cv. 'Jalos'.), grown *ex situ* on the collection plot of essential oil plants at the Nikita Botanical Gardens, were harvested for the investigation in March and May of 2020.

For the anatomical studies, the middle parts of leave blades were excised and processed on a freezing microtome (MZ-2, Ukraine) equipped with a lab cooling system OL-ZSO 30 (Inmedprom, Russian Federation). Sections were stained with methylene blue and examined using a CX41 light microscope (Olympus, Japan) equipped with an SC 50 camera (Olympus, Germany) and CellSens Imaging Software version 1.17.

Essential oil from the thyme leaves was isolated by the method of hydrodistillation on Ginsberg devices (Isikov et al., 2009; Logvinenko, 2017) with subsequent measurement of its volume. The content of phenolic compounds in leaves was measured with the Folin–Ciocâlteu reagent (AppliChem GmbH, Germany) (Gerzhikova, 2002).

For DNA isolation, intact young leaves were cut from *ex situ* cultivated plants. Samples were transferred to mortars, frozen in liquid nitrogen, and homogenized using a pestle. The tissue powders, preventing thawing, were transferred to test tubes with a lysing buffer. Isolation procedure was carried out according to the protocols of the manufacturers of the DiamondDNA™ (DiamondDNA, Russian Federation), PureLink® Plant Total DNA Purification Kit (Thermo Scientific™, USA), isolation with CTAB-method (trimethylammonium bromide) (Rogers et al., 1985; Doyle J.J, Doyle J.L., 1987) and CTAB-method with 2% polyvinylpyrrolidone (PVP). DNA quantity and quality were analyzed with NanoPhotometer NP80 (Implen, Germany) at wavelengths A_{260}, A_{280}, by electrophoresis in 1% agarose gel with 1×TBE buffer and using the Agilent 4200 TapeStation automated electrophoresis system (Agilent Technologies, Germany). For assessment of DNA quality, PCR was also performed with BioMaster HS-Taq PCR kit (BiolabMix, Russian Federation) according to the manufacturer's protocol using primer OPA18 (5'AGGTGACCGT3') for RAPD assay. PCR were carried out in the C1000™ Thermal Cycler (Bio-Rad, Singapore). The reaction conditions were as follows: initial denaturation at 95°C for 5 min, followed by 35 cycles of incubation at 94°C for 30 s, annealing at 32°C for 30 s and incubation at 72°C for 30 s, and with a final extension step at 72°C for 5 min. The amplified fragments were analyzed by electrophoresis in 1.5% agarose gel with 1×TBE buffer at 100 V during 1 h using universal power supply PowerPacTM (Bio-Rad, Singapore). The agarose gel was imaged with E-box documentation system (Vilber Lourmat, France).

Results and discussion

For a molecular analysis, different vegetative and generative organs of a plant are used in wet or dry state. Selection depends on the aim of investigation. In our works, we used wet leaves, because these organs were for a long period on plants grown *ex situ*, and smaller sample weight was needed for investigation. It is well known that aromatic plants contain secondary metabolites. Thymes contain more than 1% of the essential oil with phenols, such as camphene, *β*-myrcene, 1,8-cineole, camphor, *β*-caryophyllene, caryophyllene oxide, thymol, carvacrol, *p*-cymne, borneol, sabinene, and *γ*-terpinene. Essential oil composition varies depending on the growth place. Tannins, bitters, gums, organic acids, flavonoids and some salts are also detected in the plant material (Karomatov, Asadova, 2017).

Firstly, an anatomical investigation was performed. The analysis showed that leaf blades of four thyme cultivars ('Svetliachok', 'Fantasia', 'Jubileiniy' and 'Jalos') were characterized by differentiated mesophyll (Fig. 1), and both mesophyll cells had inclusions with essential oil inside. The amounts of essential oil and phenolics in the leaf blades of the thyme cultivars was measured biochemically (Table 1).

According to our data, we ranged plants from higher to smaller values of the leaf essential oil content in the following order: 'Svetliachok' → 'Jubileiniy' → 'Fantasia' → 'Jalos'. The descending order of the phenolic content in plant leaves was as follows: 'Svetliachok' → 'Jalos' → 'Jubileiniy' → 'Fantasia'. Since the plants were characterized by the presence of secondary metabolites, DNA was isolated by different methods. Below, the $A_{260/280}$ wavelength ratio data are shown. Spectrophotometric analysis demonstrated that the classical CTAB method using CTAB buffer with 2% PVP gave the best results (Table 2). PureLink® Plant Total DNA Purification Kit isolated DNA with lower concentration values for

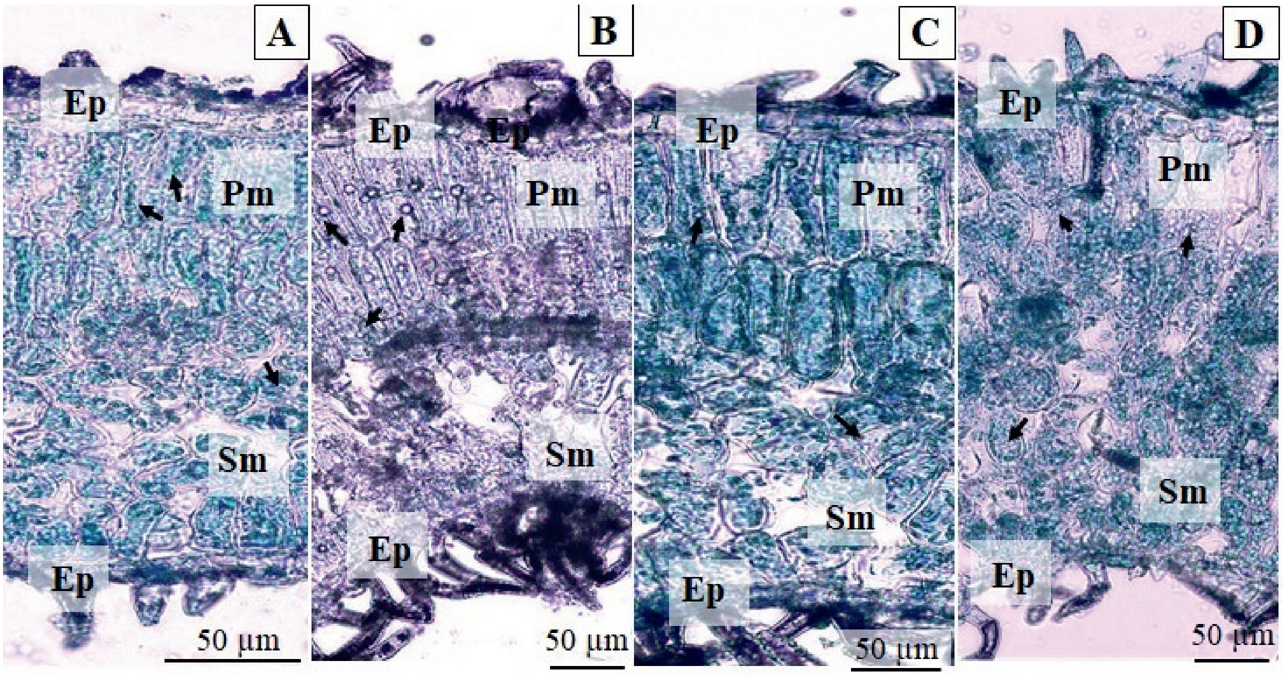


Fig. 1. Transversal section fragments of the thyme leaves from four cultivars: A – Svetliachok, **B** – Fantasia, **C** – Jubileiniy, **D** – Jalos; **Ep** – epidermis, **Pm** – palisade mesophyll, **Sm** – spongy mesophyll. Arrows indicate inclusions with essential oil

Рис. 1. Фрагменты поперечных срезов листьев четырех сортов чабреца: A – Светлячок, **B** – Фантазия, **C** – Юбилейный, **D** – Ялос; **Ep** – эпидерма, **Pm** – столбчатый мезофилл, **Sm** – губчатый мезофилл. Стрелками показаны включения с эфирным маслом

Table 1. Essential oil and phenolic compound content in the leaves of thyme cultivars

Таблица 1. Содержание эфирного масла и фенольных соединений в листьях разных сортов чабреца

Cultivar	Essential oil content, %/100 g	Phenolic compound content, mg/100 g	Main component
Svetliachok	1.18	1072 ± 29.45	1,8-cineole
Fantasia	0.18 ± 0.08	689 ± 13.8	thymol
Jubileiniy	0.25 ± 0.04	818 ± 10.33	thymol
Jalos	0.16 ± 0.01	914 ± 9.29	linalool

all cultivars. In the samples isolated with DiamondDNA™ kit (Fig. 2A), DNA fragmentation was detected.

Since *T. mastichina* cv. 'Svetliachok' was characterized by a high accumulation of essential oil and phenols, investigation of the DNA samples was performed additionally on the automated electrophoresis system. Figure 3 shows the satisfactorily DNA state based on the DNA Integrity Number (DIN) value. The presence of high-molecular-weight DNA (more than 52,000 bp) in significant amounts was detected in the samples isolated with DiamondDNA™ kit and CTAB + 2% PVP. Its concentrations were 14.6 ng/µl (molecular size 57,509 bp) and 11.7 ng/µl (more than 60,000 bp), respectively. CTAB with 2% PVP gave DNA with concentrations 7.86 ng/µl (58,025 bp) and 14.6 ng/µl (58,025 bp). Using the CTAB method, high-molecular-weight DNA was obtained in the concentration of 2.53 ng/µl, but in the samples isolated with PureLink® Plant Total DNA Purification Kit, high-molecular-weight DNA was not detected.

The isolated DNA samples were also amplified with primer OPA 18 (Fig. 4). The amplification results show clear PCR products with different sizes (bp), suggesting the acceptability of all investigated DNA samples for PCR amplification.

For DNA isolation, kits utilizing liquid sorbent technology (DiamondDNA), silica-based membrane technology in the form of spin column (PureLink), classical CTAB-method, and CTAB method + 2% PVP were used. According to the manufacturer's protocol, kits provide the purified genomic DNAs with $A_{260/280}$ ratio more than 1.7, usually ranging in the interval of 1.8–2.0, which is an evidence of the pure DNA (Vega-Vela, Chacón-Sánchez, 2011). It should be noted, that kits and protocols are usually aimed for model plants (peas, wheat, etc.). The studied essential oil plants were characterized by secondary metabolite accumulation at various concentrations. It is well known that identifying secondary metabolites in the plant cells and their further presence in so-

Table 2. Quality of the DNA isolated by different methods from the leaves of thyme cultivars
Таблица 2. Показатели качества ДНК, выделенной разными способами из листьев чабреца

Parameter / Isolation method	Plant material weight (mg)	$A_{260/280}$	DNA concentration (ng/μl)
Svetliachok			
DiamondDNA™	29.67 ± 1.2	1.87 ± 0.15	226.3 ± 79.06
PureLink®	100.67 ± 2.33	1.7 ± 0.04	10.38 ± 4.26
CTAB	102.67 ± 0.33	2.02 ± 0.02	66.2 ± 3.63
CTAB +2% PVP	102.67 ± 1.77	1.99 ± 0.33	122.53 ± 41.56
Fantasia			
DiamondDNA™	30.66 ± 0.67	1.83 ± 0.09	42.35 ± 6.25
PureLink®	100.33 ± 1.2	1.58 ± 0.07	8.27 ± 0.42
CTAB	102 ± 1.15	1.91 ± 0.09	89.7 ± 81.81
CTAB +2% PVP	103 ± 1	1.84 ± 0.05	23.83 ± 5.91
Jubileiniy			
DiamondDNA™	29.66 ± 0.33	1.9 ± 0.09	61.48 ± 13.06
PureLink®	99.67 ± 2.02	1.61 ± 0.06	7.7 ± 1.17
CTAB	101.33 ± 1.86	1.79 ± 0.11	67.75 ± 61.29
CTAB +2% PVP	100.33 ± 0.33	1.97 ± 0.03	157.73 ± 123.58
Jalos			
DiamondDNA™	28.66 ± 0.33	1.9 ± 0.09	124.2 ± 26.07
PureLink®	101.33	1.64 ± 0.05	8.28 ± 2.29
CTAB	101 ± 1	1.9 ± 0.12	58.75 ± 32.47
CTAB +2% PVP	102.67 ± 0.67	1.96 ± 0.03	56.43 ± 15.61

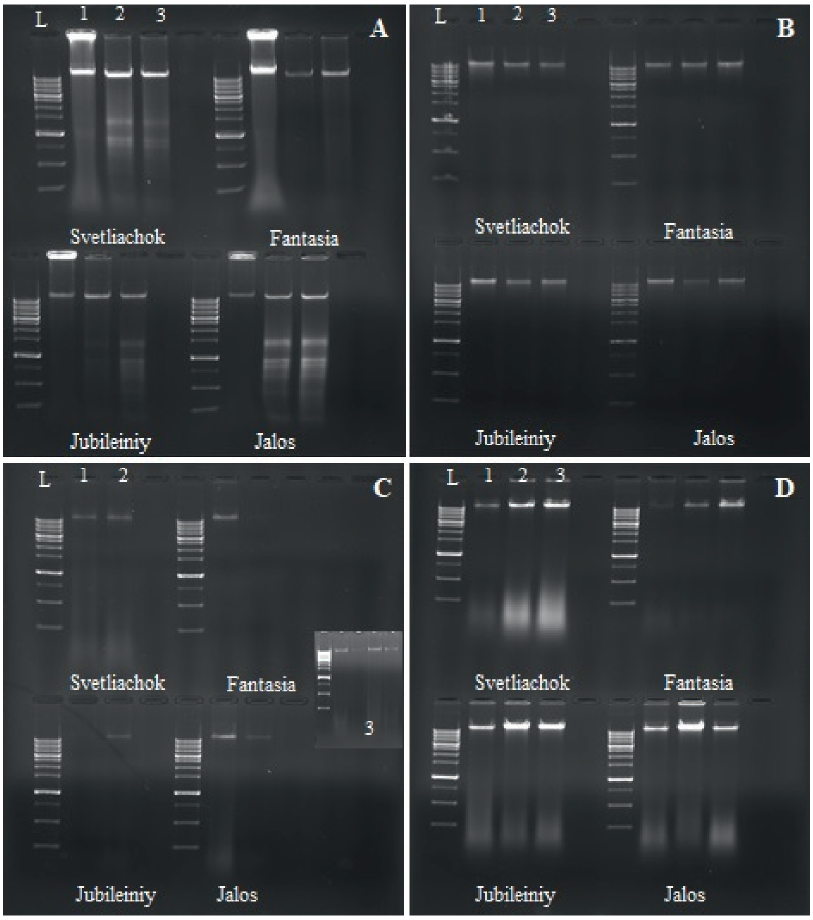


Fig. 2. Electrophoregrams of DNA samples extracted from the leaves of four thyme cultivars by different methods: **A** – DiamondDNA™ kit, **B** – PureLink® Plant Total DNA Purification Kit, **C** – CTAB, **D** – CTAB + 2% PVP; **1 – 3** – samples, **L** – ladder (10,000 bp, Sky-High 250 b – 10 kb, Biolabmix)

Рис. 2. Электрофореграммы образцов ДНК, выделенных из листьев четырех сортов чабреца разными способами: **А** – набор DiamondDNA™, **В** – набор PureLink® Plant Total DNA Purification Kit, **С** – ЦТАБ, **D** – ЦТАБ + 2% ПВП; **1 – 3** – образцы, **L** – маркер (10 000 пн, Sky-High 250 b – 10 kb, Биолабмикс)

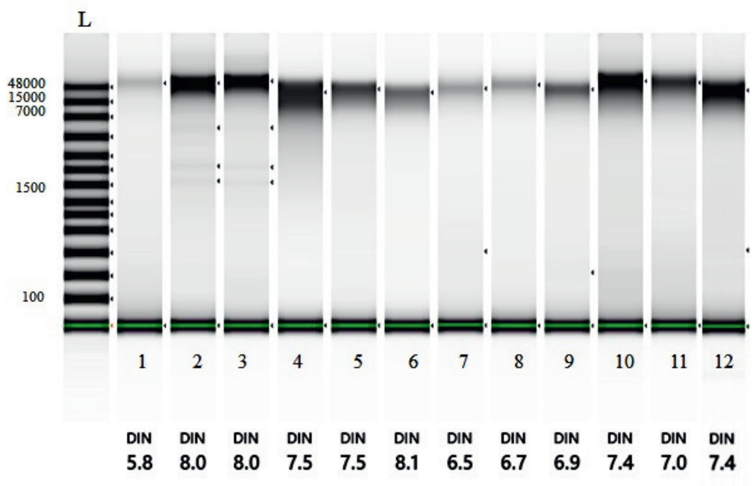


Fig. 3. Electrophoregrams of DNA samples isolated from the leaves of cv. Svetliachok: **L** – ladder (Genomic DNA Ladder, Agilent Technologies), **1 – 3** – DiamondDNA™ kit, **4 – 6** – PureLink® Plant Total DNA Purification Kit, **7 – 9** – CTAB, **10 – 12** – CTAB + 2% PVP

Рис. 3. Электрофореграммы образцов ДНК, выделенных из листьев чабреца сорта Светлячок: **L** – маркер (Genomic DNA Ladder, Agilent Technologies), **1 – 3** – набор DiamondDNA™ kit, **4 – 6** – набор PureLink® Plant Total DNA Purification Kit, **7 – 9** – ЦТАБ, **10 – 12** – ЦТАБ + 2% ПВП

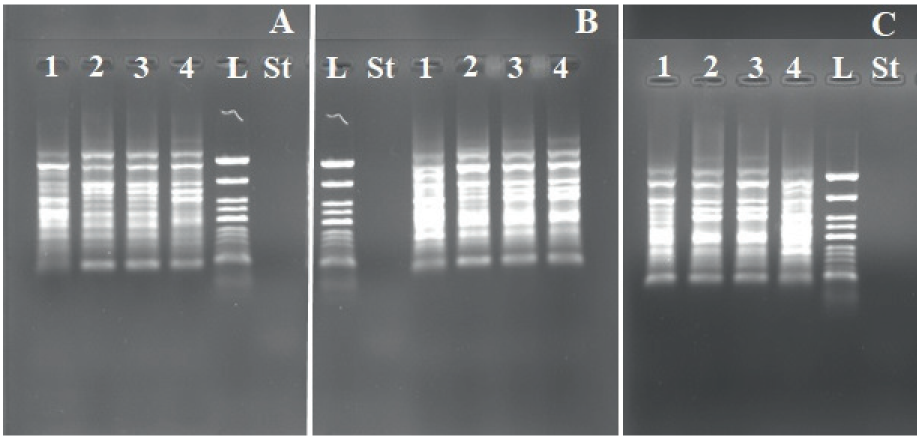


Fig. 4. Electrophoregrams of PCR products amplified with OPA18 primer: L – ladder (1,500 bp, Step50 plus, Biolabmix), **St** – negative control without DNA template; **A** – DiamondDNA™ kit, **B** – PureLink® Plant Total DNA Purification Kit, **C** – CTAB + 2% PVP; **1** – Svetliachok, **2** – Fantasia, **3** – Jubileiniy, **4** – Jalos

Рис. 4. Электрофореграммы продуктов ПЦР с праймером OPA18: L – маркер (1500 пн, Step50 plus, Биолабмикс), **St** – отрицательный контроль без ДНК-матрицы; **A** – набор DiamondDNA™ kit, **B** – набор PureLink® Plant Total DNA Purification Kit, **C** – ЦТАБ + 2% ПВП; **1** – Светлячок, **2** – Фантазия, **3** – Юбилейный, **4** – Ялос

lution with DNA may lead to failure of molecular analysis. For example, essential oil accumulation in leaf blades influence the DNA quality (Bulavin et al., 2019b), phenolic compounds and terpenes can reduce the yield and purity of extracted DNA due to its degradation (Kanauja et al., 1999; Vega-Vela, Chacón-Sánchez, 2011). These undesirable phenomena are eliminated by adding PVP in the range 1–5% (Hills, van Staden, 2002; Sá et al., 2011; Arruda et al., 2017; Lucas et al., 2019) to the CTAB extraction buffer and further overnight rehydration of the PVP. Our results also demonstrated that DNAs isolated from four thyme cultivars with the CTAB method + 2% PVP had robust values of $A_{260/280}$ ratio despite the presence of essential oils and phenols in the plant tissues. Applicability of DNA for molecular analysis was also confirmed by PCR with a random primer. Agarose gel electrophoresis of PCR products showed that no inhibition of Taq DNA polymerase activity was observed and clear marker fragments were detected.

Conclusion

Using any techniques for DNA isolation should be based on the type of the plant material. The obtained results demonstrated that the quality of the DNA isolated from thyme leaves depended on the presence of secondary metabolites, their amount, and the isolation method. Among the tested kits and methods, CTAB + 2% PVP provided thyme DNA suitable for PCR. It is also assumed that such DNA is suitable for genome library preparation. The low cost of reagents for this technique makes it applicable for future mass analysis of plant material.

The research was conducted in the framework of State Task No. 0829-2019-0038, delegated to the Nikita Botanical Gardens – National Scientific Center of the RAS, on the basis of the unique research facility "Scientific Center of Plant Biotechnology, Genomics and Conservation" at the NBG – NSC RAS.

Исследования выполнены в рамках Государственного задания №0829-2019-0038 ФГБУН "НБС – ННЦ РАН" на базе уникальной научной установки "Научный центр биотехнологии, геномики и депонирования растений" ФГБУН "НБС–ННЦ РАН".

References/Литература

Afsharzadeh S., Abbasi S. An efficient and simple CTAB based method for total genomic DNA isolation from low amounts of aquatic plants leaves with a high level of secondary metabolites. *Progress in Biological Sciences.* 2016;6(1):95-106. DOI: 10.22059/PBS.2016.59012

Arruda S.R., Pereira D.G., Silva-Castro M.M., Brito M.G., Waldschmidt A.M. An optimized protocol for DNA extraction in plants with a high content of secondary metabolites, based on leaves of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. (Leguminosae). *Genetics and Molecular Research.* 2017;16(3):1-9. DOI: 10.4238/gmr16039063

Bulavin I.V., Brailko V.A., Grebennikova O.A., Andreev M.S., Krivenko O.V., Mitrofanova I.V. Efficiency evaluation of commercial kits for DNA isolation from lavandine (*Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel.). *Pomiculture and Small Fruits Culture in Russia.* 2019a;59:286-293. [in Russian] (Булавин И.В., Браилко В.А., Гребенникова О.А., Андреев М.С., Кривенко О.В., Митрофанова И.В. Оценка эффективности коммерческих наборов для выделения ДНК из лавандина (*Lavandula × intermedia* Emeric Ex Loisel.). *Плодоводство и ягодоводство России.* 2019a;59:286-293). DOI: 10.31676/2073-4948-2019-59-286-293

Bulavin I.V., Brailko V.A., Mitrofanova I.V. Essential oil histochemical staining in the lavandin leaves and isolated DNA quality regard to anatomy. *Scientific Notes of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry.* 2019b;5(71):3-11. [in Russian] (Булавин И.В., Браилко В.А., Митрофанова И.В. Гистохимическое выявление эфирных масел в листьях лавандина и качество выделенной ДНК в связи с анатомическими особенностями. *Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского Биология. Химия.* 2019b;5(71)(3):3-11).

Dhifi W., Bellili S., Jazi S., Bahloul N., Mnif W. Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review. *Medicines.* 2016;3(4):25. DOI: 10.3390/medicines3040025

Doyle J.J., Doyle J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin.* 1987;19(1):11-15.

Fu Z.Y., Song J.C., Jameson P.E. A rapid and cost effective protocol for plant genomic DNA isolation using regenerated silica columns in combination with CTAB extraction. *Journal of Integrative Agriculture*. 2017;16(8):1682-1688. DOI: 10.1016/S2095-3119(16)61534-4

Gerzhikova V.G. Methods of technochemical control in winemaking (Metody tekhnokhimicheskogo kontrolya v vinodelii). Simferopol; 2002. [in Russian] (Гержикова В.Г. Методы технохимического контроля в виноделии. Симферополь; 2002).

Hills P.N., van Staden J. An improved DNA extraction procedure for plant tissues with a high phenolic content. *South African Journal of Botany.* 2002;68(4):549-550. DOI: 10.1016/S0254-6299(15)30384-7

Isikov V.P., Rabotyagov V.D., Hlypenko L.A., Logvinenko I.E., Logvinenko L.A., Kut'ko S.P., Bakova N.N., Marko N.V. Introduction and breeding of aromatic and medicinal crops: methodological and technical aspects (Introduktsiya i selektsiya aromaticheskikh i lekarstvennykh kultur: metodologicheskiye i metodicheskiye aspekty). Yalta; 2009. [in Russian] (Исиков В.П., Работягов В.Д., Хлыпенко Л.А., Логвиненко И.Е., Логвиненко Л.А., Кутько С.П., Бакова Н.Н., Марко Н.В. Интродукция и селекция ароматических и лекарственных культур: методологические и методические аспекты. Ялта; 2009).

Kanauja S.P.S., Shasany A.K., Darokar M.P, Sushil K. Rapid isolation of DNA from dry and fresh samples of plants producing large amounts of secondary metabolites and essential oils. *Plant Molecular Biology Reporter*. 1999;17(1):74. DOI: 10.1023/A:1007528101452

Karomatov I.D., Asadova S.I. Herb thyme ordinary. *Biologiya i integrativnaya meditsina = Biology and Integrative Medicine.* 2017;11:168-178. [in Russian] (Кароматов И.Д., Асадова Ш.И. Лекарственное растение чабрец обыкновенный. *Биология и интегративная медицина.* 2017;11:168-178).

Logvinenko L.A. *Myrtus communis* L. in the conditions of the southern coast of Crimea. *Agrarian Bulletin of the Urals.* 2017;9(163):16-23. [in Russian] (Логвиненко Л.А. Культура мирт обыкновенный (*Myrtus communis* L.) в условиях Южного берега Крыма. *Аграрный вестник Урала.* 2017;9(163):16-23).

Lucas M.S., Carvalho C.S., Hypolito G.B.H., Côrtes M.C. Optimized protocol to isolate high quality genomic DNA from different tissues of a palm species. *Hoehnea.* 2019;46(2):e942018. DOI: 10.1590/2236-8906-94/2018

Marko N.V., Logvinenko L.A., Shevchuk O.M., Feskov S.A. Annotated catalog of aromatic and medicinal plants of the Nikita Botanical Gardens collection (Annotirovanny katalog aromaticheskikh i lekarstvennykh rasteniy kollektsii Nikitskogo botanicheskogo sada). Simferopol; 2018. [in Russian] (Марко Н.В., Шевчук О.М., Логвиненко Л.А., Феськов С.А. Аннотированный каталог ароматических и лекарственных растений коллекции Никитского ботанического сада. Симферополь; 2018).

Naeem A., Abbas T., Ali T.M., Hasnain A. Essential oils: Brief background and uses. *Annals of Short Reports.* 2018;1(1):1006.

Pashtetskiy V.S., Verdysh M.V, Popova A.A., Kolesnikova A.V. Analysis of essential oils markets and state of essential production in the Russian Federation. *Construction Economic and Environmental Management.* 2017;4(65):49-54. [in Russian] (Паштетский В.С., Вердыш М.В., Попова А.А., Колесникова А.В. Анализ рынков эфиромасличной продукции и состояния эфиромасличного производства в Российской Федерации. *Экономика строительства и природопользования*. 2017;4(65):49-54).

Plugatar Yu.V., Shevchuk O.M. Results and directions of the breeding of aromatic and medicinal plants in the Nikitsky Botanical Gardens. *Bulletin of the State Nikita Botanical Gardens.* 2019;130:9-17. [in Russian] (Плугатарь Ю.В., Шевчук О.М. Итоги и направления селекции ароматических и лекарственных растений в Никитском ботаническом саду. *Бюллетень Государственного Никитского Ботанического сада*. 2019;130:9-17). DOI: 10/25684/NBG.boolt.130.2019.01

Rehman R., Hanif M.A., Mushtaq Z., Mochona B., Qi X. Biosynthetic factories of essential oils: the aromatic plants. *Natural Products Chemistry and Research*. 2016;4(4):227. DOI: 10.4172/2329-6836.1000227

Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Molecular Biology*. 1985;5(2):69-76. DOI: 10.1007/BF00020088

Sá O., Pereira J.A., Baptista P. Optimization of DNA extraction for RAPD and ISSR analysis of *Arbutus unedo* L. leaves. *International Journal of Molecular Sciences*. 2011;12(6):4156-4164. DOI: 10.3390/ijms12064156

Sharifi-Rad J., Sureda A., Tenore G.C., Daglia M., Sharifi-Rad M., Valussi M. et al. Biological activities of essential oils: from plant chemoecology to traditional healing systems. *Molecules*. 2017;22(1):70. DOI: 10.3390/molecules22010070

Tiwari S., Singh Tomar R.S., Tripathi M.K., Ahuja A. Modified protocol for plant genomic DNA isolation. *Indian Research Journal of Genetics and Biotechnology*. 2017;9(4):478-485.

Vega-Vela N.E., Chacón-Sánchez M.I. Isolation of high-quality DNA in 16 aromatic and medicinal Colombian species using silica-based extraction columns. *Agronomía Colombiana.* 2011;29(3):349-357.

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

Булавин И.В., Гребенникова О.А., Браилко В.А., Феськов С.А., Митрофанова И.В. Сравнительный анализ ДНК, выделенной из листьев чабреца разными способами. Труды по прикладной ботанике,генетикеи селекции.2020;181(3):155-162.DOI:10.30901/2227-8834-2020-3-155-162

Bulavin I.V., Grebennikova O.A., Brailko V.A., Feskov S.A., Mitrofanova I.V. Comparative analysis of the DNA isolated from thyme leaves using different methods. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(3):155-162. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-155-162

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/10.30901/2227-8834-2020-3-155-162

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

Bulavin I.V.	https://orcid.org/0000-0002-9929-0946
Grebennikova O.A.	https://orcid.org/0000-0001-6850-4924
Brailko V.A.	https://orcid.org/0000-0003-3853-0210
Feskov S.A.	https://orcid.org/0000-0002-0740-6906
Mitrofanova I.V.	https://orcid.org/0000-0002-4650-6942

The genus *Camelina* (Cruciferae) in Mongolia and China reviewed on the basis of herbarium materials from the Institute of General and Experimental Biology of the ASM (UBA) and the Komarov Botanical Institute (LE)

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-163-165

УДК 581.6:581.52:581.54:581.95
Поступление/Received: 09.06.2020
Принято/Accepted: 21.09.2020

Род рыжик – *Camelina* (Cruciferae) Монголии и Китая по материалам гербариев Института общей и экспериментальной биологии АНМ (UBA) и Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (LE)

V. I. DOROFEYEV [1]*, U. ENKHMAA [2]

[1] *Komarov Botanical Institute of the RAS,*
2 Professora Popova Street,
St. Petersburg 197376, Russia
* *vdorofeyev@yandex.ru*

[2] *Institute of General and Experimental Biology of the Academy of Sciences of Mongolia,*
Enkhtaivany Prospekt, Ulaanbaatar, Mongolia
ganboldenebish@yahoo.com

В. И. ДОРОФЕЕВ [1]*, У. ЭНХМАА [2]

[1] *Ботанический институт им. В.Л. Комарова*
Российской академии наук,
197376 Россия, г. Санкт-Петербург,
ул. Профессора Попова, 2
* *vdorofeyev@yandex.ru*

[2] *Институт общей и экспериментальной биологии АНМ,*
Монголия, Улан-Батор, проспект Энхтайваны
ganboldenebish@yahoo.com

Herbarium collections of the genus *Camelina* preserved at the Institute of General and Experimental Biology of the Academy of Sciences of Mongolia (UBA) and the Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences (LE) were studied. The collections of these Herbaria contain materials of 3 species from Mongolia (*C. caucasica* (Sinsk.) Vass., *C. sativa* (L.) Crantz, *C. sylvestris* Wallr.) and 4 from China (*C. sativa*, *C. linicola* Schimp. et Spenn., *C. microcarpa* Andrz., C. *sylvestris*).

Key words: *Camelina microcarpa*, *Camelina sylvestris*, *Camelina sativa*, *Camelina linicola*, *Camelina caucasica*, Brassicaceae, geographical distribution.

Изучены гербарные коллекции рода *Camelina* Crantz (Cruciferae) Института общей и экспериментальной биологии АНМ (UBA) и Ботанического института имени В.Л. Комарова РАН (LE). В фонтах упомянутых гербариев хранятся материалы по трем (*C. caucasica* (Sinsk.) Vass., *C. sativa* (L.) Crantz, *C. sylvestris* Wallr.) видам этого рода из Монголии и четырем (*C. sativa*, *C. linicola* Schimp. et Spenn., *C. microcarpa* Andrz., *C. sylvestris*) с территории Китая.

Ключевые слова. *Camelina microcarpa*, *Camelina sylvestris*, *Camelina sativa*, *Camelina linicola*, *Camelina caucasica*, Brassicaceae, географическое распространение.

To discuss the species diversity within the genus *Camelina* Crantz in Mongolia and China, we studied not very large herbarium holding at the Institute of General and Experimental Biology of the Academy of Sciences of Mongolia (UBA, Ulaanbaatar) and the Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences (LE, St. Petersburg). At the same time, these collections made it possible to clarify the diversity of *Camelina* spp. in the Mongolian and Chinese florae. Some gaps were filled in the species diversity of Mongolia. The most recent regional revision of cruciferous plants in Mongolia (German, 2015) did not cite *C. caucasica* (Sinsk.) Vass. The diversity of *Camelina* spp. in the Chinese vegetation was doubled: previously, only two species had been recognized (Zhou et al., 2001).

Supplements to the *Camelina* diversity in East Asia are primarily associated with the still remaining ignorance about the existing morphological boundaries between the pairs of species: *C. microcarpa* Andrz. with *C. sylvestris* Wallr., and *C. sativa* (L.) Crantz with *C. linicola* Schimp. et Spenn., although they are clearly obvious not only from the type specimens.

The diversity of the genus *Camelina* is not too convincingly exposed in the discussions on geographical and phylogenetic data contained in a quite recent publication by Žerdoner Čalasan et al. (2019). The authors expressly emphasized the rather strange variations in *C. microcarpa* (as they understood them): for example, 4 ribotypes (two western and two eastern), and *C. sativa* which was represented in the said publication by two ribotypes. In fact, those studies showed a clearly manifested, geographically and phylogenetically determined richness of species within *C. microcarpa* aggr., once described as ser. *Microcarpae*, and later recognized as a section (Dorofeyev, 1996; 2019).

No less obvious is the species diversity of *C. sativa* aggr. (ser. *Camelina*) (Dorofeyev, 1996). It is impossible not to notice this fact while scrutinizing the cited publication. A drawback in the study by the previous authors is that *C. rumelica* Velen. was incorporated into the diversity of *C. microcarpa*, which is detrimental to the true understanding of the diversity of the genus in question and does not allow the readers to see and evaluate its general structure.

The genus *Camelina* is not natural for Mongolia or China. This fact is obvious not only from the records on the herbarium sheets at LE and UBA, but also from the results of our long-term observations in Siberia and Mongolia. Anthropogenically introduced adventive plants, scantily represented in both herbaria at Ulaanbaatar and St. Petersburg, still reflect the existing, albeit small, diversity of species whose morphological information is not yet available in old or new publications containing reviews of these cruciferous plants in these two countries (Grubov, 1982; Zhou et al., 2001; German, 2009; 2015; etc.).

It was established on the basis of herbarium materials reviewed in the said publication that the *Camelina* diversity in East and Central Asia comprises 5 species: *C. microcarpa*, *C. sylvestris*, *C. sativa*, *C. linicola* and *C. caucasica*. The first two are not very frequent elements of the segetal flora. Their renewal and existence in plant communities take place in a natural way.

The remaining three species (cultivars) cannot independently and constantly reproduce themselves in the mentioned florae. Over time, their presence in these florae, due to natural reasons, declines, and without proper concomitant agricultural practices they can die out within a few years. These processes are quite evident, for example, in Eastern Europe, where in the late 20th century *Camelina* had not been planted as an oilseed crop for decades.

The morphological features that distinguish the discussed species are quite obvious, although they are constantly ignored (Žerdoner Čalasan et al., 2019). For example, *C. microcarpa* and *C. sylvestris* have relatively small pear-shaped fruits. In the first species, the top of the fruit is succise, in the second one it is attenuate.

Unlike the previous species, the fruit of *C. sativa* is 1.5 times larger than theirs and slightly attenuated at the top. *C. caucasica* has a distinctive fruit, depressed at the sides, deformed from side of the frame, slightly attenuated from above. This feature in the fruit structure evolved, on the one hand, in the process of the fruit's asymmetric development, and on the other, as a result of targeted selection of thin-valve forms, most convenient for threshing. In contrast to *C. caucasica*, the fruit of *C. linicola* is characterized by a markedly blunted tip of the silicle.

Camelina Crantz

1. *C. linicola* Schimp. et Spenn.

[Северо-восточный Китай] Маньчжурия, ст. Туачен-ту Кит[айско]-В[осточной] ж[елезной] д[ороги], 16 VII 1905, П. Егоров (LE!) [China, Manchzhuria, Tauchentu Railway Station, 16 VII 1905, P. Egorov]

2. *C. caucasica* (Sinsk.) Vass.

[Монгольская Народная Республика] Ховсгол аймаг, Хонгор бригад, Туршлагын талвай, Тариалангийн с.а.а. (UBA!) [Mongolia, Khovsgol Aimak]

Монгольская Народная Республика, Центральный аймак, Бату Сумбур сомон, долина р. Хары близ сомона, опытный пункт Комитета наук, комплексные луга в пойме р. Хары, VII 1944, В. Ф. Шубин (LE!) [Mongolia, Central'nyi Aimak, Batu Sumbur Somon, VII 1944, V. F. Shubin]

[Монгольская Народная Республика] Монгол Дагуур: Сэлэгэ аймаг, Дарханы с.а.а., тариалангийн талбайгаас, 10 VIII 1966, Г. Цэрэнбалжид, И. Санчир (UBA!) [Mongolia, Selenge Aimak, Darkhany Somon, 10 VIII 1966, G. Cerenbalzhin, I. Sanchir]

3. *C. sativa* (L.) Crantz

[Северо-восточный Китай] Маньчжурия, бл. ст. ж.д. Цунь, 26 VI 1902, №1018, Д. Литвинов (LE!) [China, Manchzhuria, Cun' Railway Station, 26 VI 1902, D. Litvinov]

[Северо-восточный Китай] Маньчжурия, западн. Хангайские горы, бл. ст. ж.д. Джалантунь, сорное, 14 VIII 1902, №2558, Д. Литвинов (LE!) [China, Manchzhuria, West of Khangaj Mnts, Dzhalangun' Railway Station, 14 VIII 1902, №2558, D. Litvinov]

КНР [Китайская Народная Республика, Манчжурия], Хэйлунцзянская пров., уезд Хума, около дер. Ванхада, 210 м, на берегу речки под горой, 15 VII 1950, №136, Chu Yu-chang, Chao Ta-chang (LE!) [China, Manchzhuria, Kheilunczjanskaja Prov., Khuma Diestr., Vankhada Village, 15 VII 1950, №136, Chu Yu-chang, Chao Ta-chang].

Монгольская Народная Республика, Арахангайский аймак, Тувшурульх сомон, государственное животноводческое хозяйство в 45 км к юго-востоку от аймака, посевы, 14 VIII 1951, А. В. Калинина (LE!) [Mongolia, Arakhangaj Aimak, Tuvshuryl'kh Somon, 14 VIII 1951, A. V. Kalinina]

4. *C. sylvestris* Wallr.

[Китайская Народная Республика, Джунгария] Iter Turkestanicum, ... Kuldscha, 30 VI 1877, A. Regel (LE!) [China, Dzhungaria, Iter Turkestanicum, ... Kuldscha, 30 VI 1877, A. Regel]

[Китайская Народная Республика, Джунгария] Iter Turkestanicum, ... Kutentass, 14 IV 1877, A. Regel (LE!) [China, Dzhungaria, Iter Turkestanicum, ... Kutentass, 14 IV 1877, A. Regel]

[Китайская Народная Республика, Джунгария] Iter Turkestanicum, Chojur-Sumun nidl. ... Kuldscha, 27 V 1877, A. Regel (LE!) [China, Dzhungaria]

[Китайская Народная Республика, Джунгария] Iter Turkestanicum, Linke Iliseite nidwestl. ... Kuldscha, 29 V 1877, A. Regel (LE!) [China, Dzhungaria]

Синьцзянская комплексная экспедиция Академии наук Китайской Народной Республики 1956-1959 г.г. Китайская Народная Республика, Синьцзян-Уйгурская автономная область, В. Тынь-Шань, сев. склон г. Урумчи, дол. р. Урумчинки, близ гост[иницы] «Урумчи», галечная надлуговая терраса, среди посадки *Ulmus pumila*, 30 VI 1957, №10А, А. А. Юнатов (LE!) [China, Sincshan'-Ungur Autonomic Prov., Urumchi, 30 VI 1957, №10A, A. A. Yunatov]

Почвенно-агрономический отряд Монгольской экспедиции Академии наук СССР. Сев. Монголия, среднее течение р. Селенги, поля госхоза им. Коминтерн, в посеве овса на 3 террасе, 13 VIII 1931, №128, Н. Л. Десяткин (LE!) [Mongolia, average flow of Selenga River, 13 VIII 1931, №128, N. L. Desjatkin]

Монгольская Народная Республика, Хобдосский аймак, Булугун сомон, хр. Байтаг-Богдо-нуру, северный склон, ущелье Улясту гола, в 3-4 км от устья, по берегу у воды, 18 IX 1948, №5524, В. И. Грубов (LE!) [Mongolia, Bulugun Somon, Baitag-Bogdo-nuru Range, 18 IX 1948, №5524, V. I. Grubov]

[Монгольская Народная Республика] Монгол Дагуур: Сэлэнгэ аймаг, Шаамар сум-нэгдал, ... , 25 VI 1977, №1257, Б. Мощак, Ш. Дариймаа (UBA!) [Mongolia, Selenge Aimak, Shaamar Somon, 25 VI 1977, №1257, B. Mostchak, Sh. Darimaa]

5. *C. microcarpa* Andrz.

[Китайская Народная Республика, Джунгария] Iter Turkestanicum, Kuldscha, 3 V1877, A. Regel (LE!) [China, Dzhungaria, Iter Turkestanicum, Kuldscha, 3 V 1877, A. Regel]

[Китайская Народная Республика, Джунгария] Iter Turkestanicum, pr. Kuldscha, 8 V 1877, A. Regel (LE!) [China, Dzhungaria, Iter Turkestanicum, pr. Kuldscha, 8 V 1877, A. Regel] (2 specimena)

[Китайская Народная Республика, Джунгария] Iter Turkestanicum, Piluschi, bei Kuldscha, 17 V 1877, A. Regel (LE!) [China, Dzhungaria, Iter Turkestanicum, pr. Kuldscha, 17 V 1877, A. Regel]

[Китайская Народная Республика, Джунгария] Iter Turkestanicum, Chojur-Sumun ad fl. Ili, 27 V 1877, A. Regel (LE!) [China, Dzhungaria, Iter Turkestanicum, Chojur-Sumun ad fl. Ili, 27 V 1877, A. Regel]

[Китайская Народная Республика, Джунгария] Iter Turkestanicum, Kuldscha, 30 VI 1877, A. Regel (LE!) [China, Dzhungaria, Iter Turkestanicum, Kuldscha, 30 VI 1877, A. Regel] (3 specimena)

[Китайская Народная Республика, Джунгария] Iter Turkestanicum, Dschagastai, 7 VIII 1877, A. Regel (LE!) [China, Dzhungaria, Iter Turkestanicum, Dschagastai, 7 VIII 1877, A. Regel]

[Китайская Народная Республика, Джунгария] Iter Turkestanicum, Kuldscha, 12 VI 1877, A. Regel (LE!) [China, Dzhungaria, Iter Turkestanicum, Kuldscha, 12 VI 1877, A. Regel]

Работа выполнена в рамках реализации государственного задания согласно плану НИР Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (тема № АААА-А19-119031290052-1 – Сосудистые растения Евразии: систематика, флора, растительные ресурсы).

The work was carried out as part of the implementation of the State Task according to the research plan of the Komarov Botanical Institute of the RAS (No. АААА-А19-119031290052-1 – Vascular plants of Eurasia: taxonomy, flora, plant resources).

References/Литература

Dorofeyev V.I. *Camelina* (Cruciferae, Brassicaceae): structure of genus and list of species. *Vavilovia*. 2019;2(2):3-24. [in Russian] (Дорофеев В.И. Рыжик – *Camelina* (Cruciferae, Brassicaceae): внутриродовая структура и видовой состав. *Vavilovia*. 2019;2(2):3-24). DOI: 10.30901/2658-3860-2019-2-22

Dorofeyev V.I. Genus *Camelina* (Brassicaceae) of the Caucasian flora. *Botanicheskii zhurnal = Botanical Journal*. 1996;81(8):95-99. [in Russian] (Дорофеев В.И. Род *Camelina* (Brassicaceae) во флоре Кавказа. *Ботанический журнал*. 1996;81(8):95-99).

German D.A. Cruciferae (Brassicaceae): Alternative treatment for the "Conspectus of the vascular plants of Mongolia" (2014). *Turczaninowia*. 2015;18(2):39-67. DOI: 10.14258/turczaninowia.18.2.4

German D.A. New data on the species composition and distribution of Mongolian Cruciferae. *Botanicheskii Zhurnal = Botanical Journal*. 2009;94(8):1149-1158. [in Russian] (Герман Д.А. Новые данные о видовом составе и распространении крестоцветных (Cruciferae) Монголии. *Ботанический журнал*. 2009;94(8):1149-1158).

Grubov V.I., Yunatov A.A. The main features of the flora of the Mongolian People's Republic in connection with its zoning. *Botanicheskii zhurnal = Botanical Journal*. 1952;37(1):45-64. [in Russian] (Грубов В.И., Юнатов А.А. Основные особенности флоры Монгольской Народной Республики в связи с ее районированием. *Ботанический журнал*. 1952;37(1):45-64).

Urgamal M., Oyuntsegtseg B., Nyambayar D., Dulamsuren Ch. Conspectus of the vascular plants of Mongolia. Ulaanbaatar; 2014.

Žerdoner Čalasan A., Seregin A.P., Hurka H., Hofford N.P., Neuffer B. The Eurasian steppe belt in time and space: Phylogeny and historical biogeography of the false flax (*Camelina* Crantz, Camelineae, Brassicaceae). *Flora*. 2019;260:151477. DOI: 10.1016/j.flora.2019.151477

Zhou H., Lu L., Yang G., Al-Shehbaz I.A. *Camelina* Crantz. In: *Flora of China*. Vol. 8. Beijing; St. Louis; 2001. p.189.

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

Дорофеев В.И., Энхмаа У. Род рыжик – *Camelina* (Cruciferae) Монголии и Китая по материалам гербариев Института общей и экспериментальной биологии АНМ (UBA) и Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (LE). Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(3):163-165. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-163-165

Dorofeyev V.I., Enkhmaa U. The genus *Camelina* (Cruciferae) in Mongolia and China reviewed on the basis of herbarium materials from the Institute of General and Experimental Biology of the ASM (UBA) and the Komarov Botanical Institute (LE). Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(3):163-165. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-163-165

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/10.30901/2227-8834-2020-3-163-165

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
Dorofeyev V.I. https://orcid.org/0004-0002-3642-197X

Источники устойчивости к серой гнили ягод земляники для условий Среднего Урала

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-166-170

УДК 634.75:631.524
Поступление/Received: 14.05.2020
Принято/Accepted: 21.09.2020

Sources of gray mold rot resistance in strawberries in the environments of the Middle Urals

Е. Ю. НЕВОСТРУЕВА

*Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук,
620142 Россия, г. Екатеринбург, ул. Белинского, 112а*
sadovodnauka@mail.ru

E. YU. NEVOSTRUEVA

*Ural Federal Agricultural Research Center, Ural Branch of the RAS,
112a Belinskogo St.,
Yekaterinburg 620142, Russia*
sadovodnauka@mail.ru

Актуальность. Одним из самых распространенных заболеваний земляники садовой является серая гниль ягод. Она способна уничтожить во влажные сезоны, наблюдавшиеся на Среднем Урале в последние годы, более половины урожая. В первую очередь поражаются ягоды наиболее крупных, товарных размеров. Данное заболевание не приводит к гибели растения, возможно поэтому исследований данной проблемы немного. Известно, что сорта земляники с плотными ягодами менее восприимчивы к поражению серой гнилью и могут использоваться в селекционной работе в качестве исходных форм. В коллекционном фонде земляники на Свердловской селекционной станции садоводства данных сортообразцов немного, в основном зарубежной селекции, со слабой зимостойкостью, не позволяющей включать их в скрещивания в качестве материнской формы. **Материалы и методы.** Объектами исследований являлись 19 отборных сеянцев, полученных от скрещивания различных по плотности ягод исходных форм. Контрольный сорт – ‘Фестивальная’. Исследования проводились согласно общепринятым методикам. **Результаты и заключение.** Выявили устойчивые к заболеванию сеянцы с комплексом отдельных хозяйственно ценных признаков. Для использования в селекции на устойчивость к серой гнили в качестве материнской формы выделен сеянец 2-45-10 (Соловушка × Dukat). Данный сеянец, по сравнению с контрольным сортом ‘Фестивальная’, характеризуется высокой зимостойкостью, урожайностью, крупноплодностью. Сеянцы 2-54-11 (Амулет × Marmolada) и 3-45-10 (Соловушка × Dukat) могут быть использованы в скрещиваниях в качестве отцовских форм.

Ключевые слова: исходные формы, отборные сеянцы, степень подмерзания, урожайность, крупноплодность, плотность ягод.

Background. One of the most common diseases affecting garden strawberry fruits is gray mold rot. It is capable of destroying more than half of the fruit harvest in the wet seasons observed in the Middle Urals in recent years. Large-sized marketable berries are the first to be affected. The disease does not entail the plant’s death, which is one of the probable reasons why this problem has not been studied much. Strawberry cultivars yielding firmer fruit are known to be less susceptible to gray mold damage, so they can be used as source material in breeding practice. There are few such accessions in the strawberry collection maintained at Sverdlovsk Horticultural Breeding Station, and those available, being of foreign origin, demonstrate poor winter hardiness, thus precluding their use in crosses as female parents. An assessment of the damage inflicted by gray mold rot on strawberry fruit may help to identify promising source material where gray mold resistance would be combined with a set of other commercially attractive traits. **Materials and methods.** The evaluated material comprised 19 selected seedlings produced from crosses between source accessions that yielded berries of different firmness. Cv. ‘Festivalnaya’ served as the reference. The study was based on conventional techniques. **Results and conclusions.** As a result of the evaluation for gray mold resistance, seedling 2-45-10 (Solovushka × Dukat) was identified as a promising female parent. When compared with the reference, this seedling manifested winter hardiness, high yield, and large size of berries. Seedlings 2-54-11 (Amulet × Marmolada) and 3-45-10 (Solovushka × Dukat), with the response to freezing scored 2.0, may be involved in crosses as male parents.

Key words: source material, selected seedlings, freezing degree, yield, large fruit size, firmness of berries.

Введение

Серая гниль ягод – одно из распространенных и вредоносных заболеваний земляники садовой (Zubov, 1990; Maas, 2004). Восприимчивость к данному заболеванию является проблемой для многих регионов разных климатических зон земного шара, так как земляника возделывается практически повсеместно. Проблема носит не только экономический характер – потеря значительной доли урожая (до 50–80%) (Stolnikova, 2009), возрастание расходов на борьбу с заболеванием, – но и с увеличением количества химических обработок ведет к ухудшению экологической обстановки в целом (Nellist, 2018).

Селекция на устойчивость к серой гнили включена во многие селекционные программы мира (Nellist, 2018), но до настоящего времени не созданы сорта земляники, иммунные к данному заболеванию. Известны лишь некоторые сообщения исследователей о том, что поражение серой гнилью происходит дважды за сезон: первичное – при цветении, вторичное – в период созревания от уже больных ягод (Benne, 1978). Устойчивые сорта передают признак потомству, при этом выявлена прямая связь высокой плотности ягод с устойчивостью к болезни (Zubov, 1990).

На Среднем Урале благоприятные условия для развития серой гнили наблюдались в 2014, 2015, 2017, 2018 г. (Nevostruyeva, 2018). В эти годы, к примеру, у сорта ‘Фестивальная’ доля пораженных ягод составляла 18,3–43,0%. В 2017–2018 гг. отмечено наиболее сильное поражение серой гнилью, что позволило выявить устойчивые к заболеванию сеянцы для дальнейшей селекционной работы.

Таблица 1. Показатели гидротермического коэффициента периодов цветения и созревания ягод земляники (Екатеринбург; 2017, 2018 г.)

Table 1. Values of the hydrothermal coefficient for the flowering and ripening periods of strawberries (Yekaterinburg; 2017, 2018)

Год	Период цветения	ГТК в период цветения	Период созревания ягод	ГТК в период созревания
2017	06.06 – 21.06	1,67	02.00 – 27.07	2,02
2018	05.06 – 28.06	1,34	04.07 – 30.07	1,89

Материалы и методы

Исследования проведены на Свердловской селекционной станции садоводства, структурном подразделении Уральского федерального аграрного научно-исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, с использованием уникальной научной установки «Генофонд плодовых, ягодных и декоративных культур на Среднем Урале», г. Екатеринбург.

Объектом исследований являлись 19 отборных сеянцев среднего и среднепозднего сроков созревания, полученные от скрещивания исходных форм, различавшихся по плотности ягод: формы с плотными ягодами – ‘Амулет’ (Vitkovsky, 1984), ‘Marmolada’, ‘Eros’ (Yakovenko, Lapshin, 2015), ‘Dukat’ (Sizenko, 1989), ‘Totem’ (Sedov, 1995); формы со средней плотностью ягод – ‘Zefyr’ (Shokaeva, 2001), ‘Виола’ (Bogdanova, 2011), ‘Соловушка’ (Aitzhanova et al., 2013), ‘Дуэт’ (Sedov, Gryuner, 2014). В качестве контроля использовали сорт ‘Фестивальная’.

При определении степени поражения отборных сеянцев серой гнилью пользовались «Программой и методикой сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур» (Sedov, 1999); при этом подсчитывалось число пораженных ягод и общее число снятых ягод с дальнейшим переводом в процентное отношение. Согласно методике, устойчивыми к серой гнили в благоприятные для развития болезни годы являются образцы земляники, у которых потери урожая не превышают 10%.

Обработка экспериментальных данных урожайности и средней массы ягоды устойчивых сеянцев проводилась в соответствии с «Методикой полевого опыта» (Dospekhov, 1979).

Плотность и вкусовая оценка ягод данных сеянцев определялись органолептически.

Для характеристики влагообеспеченности периодов цветения и созревания урожая земляники использовали гидротермический коэффициент (ГТК) по Г. Т. Селянинову. По его значению влагообеспеченность классифицируется следующим образом: переувлажнение – > 1,6; достаточная влажность – 1,6–1,3; слабая засушливость – 1,3–1,0; засушливость – 1,0–0,7; сильная засушливость – 0,7–0,4; сухость – < 0,4 (Fedorov, 1938).

Условия периодов цветения (июнь) и созревания ягод земляники (июль) 2017 и 2018 г. являлись довольно благоприятными для развития серой гнили: наблюдалось повышенное количество выпавших осадков при пониженных температурах воздуха (табл. 1).

По сравнению с условиями 2018 года, 2017 год характеризовался более высокой влажностью в июне во время цветения земляники и в июле при созревании ягод (ГТК 1,67 и 2,02 соответственно).

Результаты и обсуждение

Согласно представленным в таблице 2 данным, наименьшее поражение ягод серой гнилью отмечено у сеянцев 1-54-11, 2-54-11 из семьи Амулет × Marmolada, где обе родительские формы характеризуются высокой плотностью ягод.

В семьях, полученных от скрещивания разных по плотности ягод исходных форм, выход гнилых ягод составил от 8,6% (Соловушка × Dukat) до 31,6% (Дуэт × Eros). Тем не менее и в этих семьях выявлены отдельные сеянцы с устойчивостью к заболеванию: 2-51-11 (Амулет × Zefyr); 2-45-10, 3-45-10 (Соловушка × Dukat); 2-43-10 (Соловушка × Marmolada); 6-44-10 (Соловушка × Totem). В таблице 3 представлена краткая характеристика устойчивых отборов.

Из числа выявленных устойчивых сеянцев подмерзание на уровне контроля отмечено у сеянца 2-45-10 (1,0 балл). Степень подмерзания остальных сеянцев ниже 2,0–2,5 балла.

По урожайности выделяются сеянцы 2-54-11, 2-45-10, 3-45-10 (75,0–94,4 ц/га). У сеянцев 2-43-10, 6-44-10 урожайность находится в пределах контрольного сорта ‘Фестивальная’ (58,9–64,1 ц/га).

Наиболее крупноплодные из изучаемых отборов – сеянцы 2-45-10, 6-44-10 и 2-43-10, у которых средняя масса ягоды по всем сборам составила 9,4; 10,1; 13,4 г соответственно. Крупноплодностью на уровне контроля характеризовалась остальная часть сеянцев.

У большинства отборных сеянцев ягоды кисло-сладкого вкуса (4,0–4,4 балла). Высокой вкусовой оценкой свежих ягод отличаются сеянцы 1-54-11 и 2-54-11 из семьи Амулет × Marmolada (4,5–4,6 баллов).

Плотные ягоды характерны практически для всех выявленных устойчивых сеянцев, кроме сеянца 2-51-11, имеющего среднеплотные ягоды.

По комплексу хозяйственно ценных признаков (зимостойкость, урожайность, крупноплодность, плотность ягод) по результатам изучения выделяется сеянец 2-45-10 из семьи Соловушка × Dukat.

Таблица 2. Поражение серой гнилью ягод отборных сеянцев земляники (Екатеринбург; 2017, 2018 г.)
Table 2. Damage inflicted by gray mold rot on the fruit of selected strawberry seedlings (Yekaterinburg; 2017, 2018)

Сеянец	Семья	Плотность ягод исходных форм		Поражение ягод серой гнилью, %		
		материнской	отцовской	2017 г.	2018 г.	среднее
Фестивальная (контроль)		средняя	средняя	27,9	43,0	35,5
1-54-11	Амулет × Marmolada	плотная	плотная	5,8	3,4	4,6
2-54-11				3,9	9,0	6,5
В среднем по сеянцам						5,6
1-51-11	Амулет × Zefyr	плотная	средняя	13,4	9,7	11,6
2-51-11				5,0	8,0	6,5
В среднем по сеянцам						9,1
1-45-10	Соловушка × Dukat	средняя	плотная	12,1	11,0	11,6
2-45-10				5,8	3,7	4,8
3-45-10				9,6	9,0	9,3
В среднем по сеянцам						8,6
1-43-10	Соловушка × Marmolada	средняя	плотная	21,2	18,0	19,6
2-43-10				5,2	10,0	7,6
В среднем по сеянцам						13,6
1-44-10	Соловушка × Totem	средняя	плотная	20,0	17,2	18,6
3-44-10				17,0	5,7	11,4
5-44-10				25,4	17,0	21,2
6-44-10				7,5	6,0	6,8
8-44-10				36,0	23,0	29,5
9-44-10				10,4	13,0	11,7
11-44-10				25,0	9,1	17,1
В среднем по сеянцам						16,6
1-41-10	Виола × Marmolada	средняя	плотная	19,5	22,0	20,8
2-41-10				18,8	15,0	16,9
В среднем по сеянцам						18,9
1-40-10	Дуэт × Eros	средняя	плотная	29,0	34,1	31,6
В среднем по сеянцам						31,6

Таблица 3. Хозяйственно-биологическая характеристика устойчивых к серой гнили отборных сеянцев земляники (Екатеринбург)

Table 3. Commercial and biological characteristics of selected strawberry seedlings resistant to gray mold rot (Yekaterinburg)

Сеянец	Степень подмерзания, балл	Урожайность, ц/га			Средняя масса ягоды, г			Оценка вкуса, балл	Плотность ягод
		2017 г.	2018 г.	x	2017 г.	2018 г.	x		
Фестивальная (контроль)	1,0	24,3	92,8	58,6	5,9	6,9	6,4	4,4	средняя
3-45-10	2,0	60,9	125,8	94,4	6,6	7,4	7,0	4,0	плотная
2-45-10	1,0	58,6	109,0	83,8	8,8	9,9	9,4	4,4	плотная
2-54-11	2,0	27,5	122,5	75,0	6,0	8,7	7,4	4,6	плотная
6-44-10	2,5	32,6	95,6	64,1	8,5	11,6	10,1	4,4	плотная
2-43-10	2,0	60,6	57,1	58,9	9,5	17,2	13,4	4,3	плотная
2-51-11	2,0	25,3	40,2	32,8	5,8	7,6	6,7	4,4	средняя
1-54-11	2,5	18,4	39,1	28,8	6,8	7,6	7,2	4,5	плотная
$НСР_{05}$				15,9			1,3		

Выводы

Для селекционной работы на устойчивость к серой гнили представляет интерес в качестве материнской формы сеянец 2-45-10 (Соловушка × Dukat), характеризующийся, наряду с устойчивостью к заболеванию, комплексом других хозяйственно ценных признаков: зимостойкостью, урожайностью, крупноплодностью, плотностью ягод. Не имеющие достаточный для материнской формы уровень зимостойкости сеянцы 3-45-10 (Соловушка × Dukat) и 2-54-11 (Амулет × Marmolada) могут быть включены в селекцию на устойчивость к серой гнили в качестве отцовской исходной формы.

Исследования проводились в рамках выполнения Государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ по направлению 150 Программы ФНИ Государственных академий наук на 2013–2020 гг. по теме «Разработка и совершенствование методов селекционной работы, создание исходного материала и адаптивных сортов зерновых, зернобобовых, кормовых, плодово-ягодных, декоративных культур и картофеля».

The research was performed within the framework of the State Task commissioned by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Objective 150 of the Fundamental Research Program for the State Academies of Sciences from 2013 to 2020: "Development and Improvement of Plant Breeding Techniques, and Development of Source Materials and Adaptable Cultivars of Cereals, Grain Legumes, Forage Crops, Fruit and Berry Crops, Ornamental Plants, and Potato".

References/Литература

Aitzhanova S.D., Andronova N.V., Nikulin A.F. Assessment of the initial forms of garden strawberries by biochemical and marketability indicators of berries (Otsenka iskhodnykh form zemlyaniki sadovoy po biokhimicheskim i tovarnym pokazatelyam yagod). *Vestnik of the Bryansk State Agricultural Academy.* 2013;1:18-21. [in Russian] (Айтжанова С.Д., Андронова Н.В., Никулин А.Ф. Оценка исходных форм земляники садовой по биохимическим и товарным показателям ягод. *Вестник Брянской государственной сельскохозяйственной академии*. 2013;1:18-21).

Benne R. Industrial production of wild strawberries (A.Yu. Kulenkamp, trans. from German) Moscow: Kolos; 1978. [in Russian] (Бенне Р. Промышленное производство земляники (пер. с немецкого А.Ю. Куленкампа). Москва: Колос; 1978).

Bogdanova I.I., Kotov L.A., Tarasova G.N., Shagina T.V., Batmanova E.M., Isakova M.G., Andreeva G.V., Nevostrueva E.Yu., Yevtushenko N.S. (comp.). Fruit, berry and ornamental crop cultivars and agricultural practices for the Urals (Sorta i agrotekhnika plodovykh, yagodnykh i dekorativnykh kultur dlya Urala). Yekaterinburg; 2011. [in Russian] (Сорта и агротехника плодовых, ягодных и декоративных культур для Урала / сост. И.И. Богданова, Л.А. Котов, Г.Н. Тарасова, Т.В. Шагина, Е.М. Батманова, М.Г. Исакова, Г.В. Андреева, Е.Ю. Невоструева, Н.С. Евтушенко. Екатеринбург; 2011).

Dospekhov B.A. Methodology of field trial (Metodika polevogo opyta). Moscow: Kolos; 1979. [in Russian]

(Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. Москва: Колос; 1979).

Fedorov A.V. Agricultural hydrometeorology (Selskokhozyaystvennaya gidrometeorologiya). Leningrad; Moscow: Gidrometeoizdat; 1938. [in Russian] (Федоров А.В. Сельскохозяйственная гидрометеорология. Ленинград; Москва: Гидрометеоиздат; 1938).

Maas J.L. Strawberry disease management. In: S.A.M.H. Naqvi (ed.). *Diseases of Fruits and Vegetables: Vol. II.* Dordrecht: Springer; 2004. p.441-483.

Nellist C.F. Disease resistance in polyploid strawberry. In: T. Hytönen, J. Graham, R. Harrison (eds). *The Genomes of Rosaceous Berries and Their Wild Relatives. Compendium of Plant Genomes.* Cham, Switzerland: Springer International Publishing: 2018. p.79-94. DOI: 10.1007/978-3-319-76020-9_7

Nevostruyeva Ye.Yu. The influence of the features of the growing seasons of recent years on strawberry yield in the Middle Urals. *Bulletin of Altai State Agricultural University.* 2018;9(167):32-36. [in Russian] (Невоструева Е.Ю. Влияние особенностей вегетационных периодов последних лет на урожайность земляники на Среднем Урале. *Вестник Алтайского государственного аграрного университета.* 2018;9(167):32-36).

Sedov E.N. (ed.). The program and methods for fruit, berry and nut crop breeding (Programma i metodika selektsii plodovykh, yagodnykh i orekhoplodnykh kultur). Orel: VNIISPK; 1995. [in Russian] (Программа и методика селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур / под ред. Е.Н. Седова). Орел: ВНИИСПК; 1995).

Sedov E.N. (ed.). The program and methods for studying fruit, berry and nut crop cultivars (Programma i metodika sortoizucheniya plodovykh, yagodnykh i orekhoplodnykh kultur). Orel: VNIISPK; 1999. [in Russian] (Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур / под ред. Е.Н. Седова). Орел: ВНИИСПК; 1999).

Sedov E.N., Gryuner L.A. (eds). Pomology. Vol. 5. Strawberry. Raspberry. Nut and rare crops (Pomologiya. T. 5. Zemlyanika. Malina. Orekhoplodnye i redkiye kultury). Orel: VNIISPK; 2014. [in Russian] (Помология. Т. 5. Земляника. Малина. Орехоплодные и редкие культуры / под ред. Е.Н. Седова, Л.А. Грюнер. Орел: ВНИИСПК; 2014).

Shokaeva D.B. Strawberry cultivars, released, promising and widespread in the south of the Non-Black-Soil Region of Russia (Sorta zemlyaniki, rayonirovannye, perspektivnye i poluchivshiye rasprostraneniye na yuge Nechernozemya Rossii). Orel: OrelGAU; 2001. [in Russian] (Шокаева Д.Б. Сорта земляники, районированные, перспективные и получившие распространение на юге Нечерноземья России. Орел: ОрелГАУ; 2001).

Sizenko Yu.M. Intensification of strawberry production abroad (Intensifikatsiya proizvodstva zemlyaniki za rubezhom). Moscow; 1989. [in Russian] (Сизенко Ю.М. Интенсификация производства земляники за рубежом. Москва; 1989).

Stolnikova N.P. Strawberry crop production in Siberia (Promyshlennaya kultura zemlyaniki v Sibiri). Novosibirsk; 2009. [in Russian] (Стольникова Н.П. Промышленная культура земляники в Сибири. Новосибирск; 2009).

Vitkovsky V.L. (ed). Catalogue of the VIR global collection. Issue 399. Strawberry (cultivar bred at the Zonal Research Institute for Horticulture in the Non-Black-Soil Region. Leningrad: VIR; 1984. [in Russian] (Каталог мировой коллекции ВИР. Выпуск 399. Земляника (сорта селекции Научно-исследовательского зонального института садоводства Нечерноземной полосы) / под ред. В.Л. Витковского. Ленинград: ВИР; 1984).

Yakovenko V.V., Lapshin V.I. Gene pool of strawberry and its use in breeding process. *Pomiculture and Small Fruits Culture in Russia.* 2015;41:379-382. [in Russian] (Яковенко В.В., Лапшин В.И. Генофонд земляники и его использование в селекционном процессе. *Плодоводство и ягодоводство России.* 2015;41:379-382).

Zubov A.A. Genetic features and breeding of strawberry (Geneticheskiye osobennosti i selektsiya zemlyaniki). Michurinsk; 1990. [in Russian] (Зубов А.А. Генетические особенности и селекция земляники. Мичуринск; 1990).

Прозрачность финансовой деятельности / The transparency of financial activities

Автор не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

The author declares the absence of any financial interest in the materials or methods presented.

Для цитирования / How to cite this article

Невоструева Е.Ю. Источники устойчивости к серой гнили ягод земляники для условий Среднего Урала.Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(2):166-170. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-166-170

Nevostrueva E.Yu. Sources of gray mold rot resistance in strawberries in the environments of the Middle Urals. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(2):166-170. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-166-170

Автор благодарит рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы / The author thanks 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/10.30901/2227-8834-2020-3-166-170

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

Автор одобрил рукопись / The author approved the manuscript

Конфликт интересов отсутствует / No conflict of interest

ORCID
Nevostrueva E.Yu. https://orcid.org/0000-0001-5077-1258

Системы ЦМС у рапса и их использование в селекции отечественных гибридов

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-171-180

УДК 633.853.494:575.153
Поступление/Received: 24.05.2020
Принято/Accepted: 21.09.2020

CMS systems in rapeseed and their use in the breeding of domestic hybrids

И. Н. АНИСИМОВА, А. Г. ДУБОВСКАЯ*

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

I. N. ANISIMOVA, A. G. DUBOVSKAYA *

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

Создание гетерозисных гибридов является наиболее эффективным подходом к решению проблемы повышения продуктивности рапса (*Brassica napus* L.) – одной из ведущих масличных культур. При получении гибридных семян рапса широко используется цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС), позволяющая проводить контролируемую гибридизацию материнских и отцовских линий. В статье приведен обзор данных литературы о природе систем ЦМС рапса и их использовании в селекции. У рапса известно более 10 систем ЦМС аллоплазматической и гомоплазматической природы. Доказана связь этого признака с химерными митохондриальными генами, характеризующимися наличием новых транскрибируемых открытых рамок считывания (*orf*). Идентифицированы гены митохондрий, ассоциированные с ЦМС *nap*, *pol*, *ogu*, *Nsa*, а также ядерные гены *Rf*, восстанавливающие фертильность пыльцы. Разработаны системы молекулярных маркеров для идентификации индуцирующих ЦМС и восстанавливающих мужскую фертильность генов. При получении промышленных гибридов рапса в мире преимущественно используются системы ЦМС *ogu*, *pol*, MSL и *inap*. В Госреестре РФ сортов растений на 2019 год представлены гибриды рапса только иностранной селекции. Рассмотрены основные достижения исследований в области гибридной селекции рапса в России. В научных и селекционных учреждениях создан новый исходный материал для гетерозисной селекции рапса в различных регионах страны. Источники стерильности и восстановления фертильности получены из учреждений Канады и Франции, а также выделены при скрининге рабочих коллекций. Установлено, что при переводе материнских линий гибридов на стерильную цитоплазму признаки структуры урожая не ухудшаются, но при переносе генов восстановления фертильности пыльцы в отцовские линии повышается содержание глюкозинолатов. Для ускорения селекционного процесса использованы дигаплоидные (андроклинные) линии, культура неоплодотворенных семязачатков *in vitro*. Получены экспериментальные гибриды с использованием ЦМС *pol* и *ogu*.

Ключевые слова: *Brassica napus*, Ogura, Polima, гены, *orf*, *Rf*, линии, гибриды, селекция, исходный материал.

Development of heterotic hybrids is the most efficient approach to solve the problem of increasing the yield of rapeseed (*Brassica napus* L.), a leading oilseed crop. The cytoplasmic male sterility (CMS), widely used in rapeseed hybrid seed production, makes it possible to control hybridization between female and male lines. A review of publications on the nature of CMS systems in rapeseed and their utilization in breeding is presented. In rapeseed there are more than 10 known CMS systems of alloplasmic and homoplasmic origin. The male sterility character proved to be determined by chimeric mitochondrial genes, characterized by the presence of novel transcribed open reading frames (*orf*). Mitochondrial CMS genes associated with *nap*, *pol*, *ogu* and *Nsa* sterility types as well as nuclear *Rf* genes for pollen fertility restoration were identified. Molecular marker systems for identification of CMS-inducing and male fertility restoring genes were developed. The *ogu*, *pol*, MSL and *inap* CMS systems are commonly used for producing industrial rapeseed hybrids. The State Register of the Russian Federation for 2019 contains rapeseed hybrids of only foreign origin. Main achievements in domestic rapeseed hybrid production are highlighted. Research and breeding institutions developed new source material for rapeseed heterotic hybrid breeding in various regions of the country. The sterility and fertility restoration sources were received from Canadian and French institutions as well as from domestic working collections. The yield structure traits did not deteriorate after transferring hybrid maternal lines to the sterile cytoplasm, while the glucosinolate content increased when pollen fertility restoring genes were transferred into paternal lines. Dihaploid (androclinium) lines and *in vitro* culture of unfertilized ovules were used to accelerate the breeding process. Experimental hybrids were developed using *pol* and *ogu* CMS.

Key words: *Brassica napus*, Ogura, Polima, genes, *orf*, *Rf*, lines, hybrids, breeding, source material.

Рапс (*Brassica napus* L., семейство Brassicaceae Burnett) – одна из ведущих масличных культур. Получаемое из семян этого растения масло – одно из наиболее потребляемых в мире растительных масел; по объему производства оно занимает пятое место после пальмового, соевого и арахисового и сравнимо с подсолнечным. Возделывание рапса возможно во всех зонах с умеренным климатом. Жирнокислотный состав пищевого рапсового масла подобен оливковому, оно используется как салатное и кулинарное. Масло рапса востребовано как техническое сырье при производстве полимеров и для получения биотоплива. Рапс также используют как кормовое и медоносное растение.

Наиболее перспективным путем повышения продуктивности рапса является создание гетерозисных гибридов. Эффект гетерозиса у рапса отмечен многими авторами (например, Brandle, McVetty, 1990). В опытных посевах он может достигать у ярового рапса 20–30%, у озимого – 30–40%. В настоящее время селекционные фирмы предпочитают создавать именно гибриды, так как производители вынуждены для каждого года посева вновь приобретать оригинальные семена (Goncharov, Gorlova, 2018). Наиболее экономичный и эффективный путь получения гибридных семян – использование признака мужской стерильности, что позволяет проводить контролируемую гибридизацию материнских и отцовских форм.

Системы ЦМС рапса

Существуют разные способы индукции мужской стерильности, которые используются в селекции *Brassica* L. Помимо химического метода (применения гаметоцидов), возможно использовать генетически обусловленные системы: самонесовместимость (SI), ядерную мужскую стерильность (NMS, ЯМС), иначе называемую генной мужской стерильностью (GMS, ГМС), и цитоплазматическую мужскую стерильность (CMS, ЦМС).

Феномен ЦМС, выражающийся в неспособности растения продуцировать жизнеспособную пыльцу и обусловленный экспрессией аберрантных (химерных) генов, возникающих в результате перестроек митохондриального генома, описан у различных видов растений (Hanson, Bentolila, 2004; Ivanov, Dymshits, 2007). ЦМС возникает в популяциях спонтанно (гомоплазматическая или аутоплазматическая ЦМС) либо при отдаленной (межвидовой, межродовой) половой или соматической гибридизации (аллоплазматическая ЦМС) (Li et al., 2019; Sang et al., 2019). Признак мужской стерильности супрессируют ядерные гены восстановления фертильности (*Rf*). За небольшими исключениями (например, кодирующий альдегиддегидрогеназу кукурузы ген *rf2*), большинство идентифицированных генов *Rf* кодирует PPR-белки, содержащие повторяющиеся вырожденные мотивы из 35 аминокислотных остатков (*Pentatricopeptide Repeat – PPR*). *PPR*-гены, продукты которых обладают функцией восстановления фертильности, выделены в отдельное подсемейство – *Restoration of Ferility Like* (*RFL*)-*PPR* (Fujii et al., 2011).

Всего у крестоцветных описано около 30 различных типов ЦМС, у рапса – более 10, среди которых гомоплазматические *nap*, *pol*, *ctr*, аллоплазматические *ogu*, *oxy*, *inap*, а также MSL. Системы гибридизации у овощных культур семейства Brassicaceae подробно рассмотрены в обзорах (Yamagishi, Bhat, 2014; Singh et al., 2019). Широкое использование различных типов ЦМС в селекции ограничено нестабильностью проявления признака стерильности в зависимости условий среды, трудностями получения надежных источников генов восстановления фертильности, а в ряде случаев и негативными эффектами стерильной цитоплазмы на хозяйственно ценные признаки. Поэтому в практической селекции применение нашли лишь некоторые из них (табл. 1).

ЦМС *nap* (napus) впервые описана в потомстве гибридов F_2 от скрещивания ярового сорта польской селекции ‘Bronowski’ в роли опылителя с дигаплоидными и инбредными линиями из шведских сортов. Выделенная стерильная линия RD15 имела генотип (*S*) *rfrf* (Thompson, 1972). При этом типе стерильности образуется небольшое количество пыльцы в начале и в конце периода цветения. У стерильных растений изменяется морфология цветка: венчик не раскрывается полностью, полусомкнутый, лепестки махровые или складчатые, пыльники игольчатой формы, в нижней части пыльников может быть немного пыльцы. Восстановление фертильности у стерильной формы из сорта ‘Bronowski’ контролируется двумя доминантными генами *Rf*. Она характеризуется тесным сцеплением гена *Rf* с геном *G* (*glossy*) – блестящие (восковидные) листья (Rousselle, Renard, 1978). ЦМС *nap* широко распространена у рапса, но из-за нестабильности практического значения не имеет.

Тип стерильности Polima (ЦМС *pol*) был описан в Китае у одноименного польского сорта рапса в 1972 г. (Fu, 1981). Морфологические изменения цветущих растений подобны изменениям соцветий у ЦМС *nap*, но деформации лепестков не наблюдается, лепестки остаются гладкими. В специальных экспериментах были выявлены различия в проявлении признака стерильности у стерильных и частично стерильных линий на основе систем *nap* и *pol* в зависимости от температуры. Так, при температуре ниже 30°C линии с ЦМС *pol* оказались полностью стерильными, но образовывали некоторое количество пыльцы при более высокой температуре. В то же время ЦМС *nap* стабильно проявлялась лишь при низких температурах (Fan et al., 1986).

Оба типа стерильности характеризуются наличием в митохондриальном геноме новых открытых рамок считывания (*orf*), последовательности которых в значительной степени сходны. Митохондриальный ген *orf222*, обуславливающий ЦМС *nap*, ко-транскрибируется вместе с экзоном транс-сплайсируемого гена *nad5c* и короткой рамкой считывания *orf139* (Liu et al., 2017). Ассоциированный с ЦМС *pol*-типа район митохондриального генома *orf224/atp6* содержит химерный ген *orf224*, который ко-транскрибируется вместе с геном *atp6*, кодирующим субъединицы комплекса V АТФ синтазы (Singh, Brown, 1993). Гены *Rfn* и *Rfp*, супрессирующие проявление ЦМС *nap* и ЦМС *pol*, тесно сцеплены, но не идентичны (Liu et al., 2016). Они сходным образом влияют на процессинг транскриптов ЦМС-генов, индуцируя удаление последовательностей с 5’-концов. В опытах по гибридизации ген *Rfn* закреплял стерильность при ЦМС *pol*, а ген *Rfp* – при ЦМС *nap* (Jean et al., 1997). Показано, что *Rfn* относится к классу типичных *RFL-PPR*-генов, характеризуется высоким уровнем экспрессии в бутонах и преимущественно экспрессируется в тапетуме и мейоцитах (Gaboreau, Brown 2016; Liu et al., 2017).

Митохондриальный ген *orf224-1*, обуславливающий стерильность широко используемой в Китае ЦМС Shaan 2A, близок по нуклеотидной последовательно-

Таблица 1. Источники цитоплазматической стерильности у рапса
Table 1. Cytoplasmic male sterility sources in rapeseed

Название / Name	Источник стерильности / Sterility source	Селекционное значение / Breeding value	Ссылки / References
nap (napus)	Внутривидовая гибридизация: ♀линии из шведских сортов×♂ cv. Bronowski (линия RD 15)	Стерильность неполная, в селекции не используется	Thompson, 1972
pol (Polima)	Спонтанная внутривидовая стерильность (cv. Polima)	Стерильность чувствительна к высокой температуре, использование ограничено	Fu, 1981
ogu (Ogura)	Стерильность и восстановитель фертильности перенесены в рапс от неизвестного сорта редиса (*Raphanus sativus*)	Нежелательные признаки преодолены (хлороз, низкая завязываемость семян, высокое содержание глюкозинолатов), созданы промышленные гибриды	Heyn, 1976; Rousselle, Bregeon, 1982
kos (Kosena)	Аналогична *ogu*- CMS, перенесена в рапс из редиса (*Raphanus sativus*) cv. Kosena		Yamagishi, Terachi, 2001
ogu-NWSUAF	Линия выделена из *kos*-CMS		Zhao et al., 2010
oxy	Межвидовая гибридизация *Brassica oxyrrhina* × *B. campestris*	Хлороз; в селекции не используется	Prakash, Chopra, 1988
ctr	Внутривидовая стерильность устойчивых к треазину образцов из cv. Tower	В селекции не используется	Grant et al., 1986
mur	Отдаленная гибридизация: *Diplotaxis muralis* × *Brassica campestris* (cv. Yukina); *D. muralis* × *B. napus* (cv. Regent)	Низкая завязываемость семян у гибридов F_1	Hinata, Konno, 1979; Fan et al., 1986
MSL	Сочетание цитоплазматической стерильности неизвестной природы и ядерной стерильности	Промышленные гибриды	Frauen, 1987
Nsa	Соматическая межвидовая гибридизация *Brassica napus* и *Sinapis arvensis*	Высокая стабильность стерильности, перспективная	Hu et al., 2002; Wei et al., 2010
inap	Соматическая межвидовая гибридизация *Brassica napus* и *Isatis indigotica*	Перспективная	Kang et al., 2017

сти к гену *orf224*, ассоциированному с ЦМС *pol*; оба гена различаются заменой одного нуклеотида в позиции 398 (Wang et al., 2002).

В зависимости от чувствительности признака мужской стерильности к температуре выделяют высокотемпературные, низкотемпературные и стабильные линии с ЦМС *pol*. Получены рекомбинанты с цитоплазмой *pol* и ядерными генами спорофитной самонесовместимости *SI* (Shen et al., 2008). Они были полностью стерильны при высоких температурах и завязывали небольшое количество семян при низких температурах, что обуславливает необходимость использования как двухлинейной, так и трехлинейной схем скрещивания (Yang et al., 1995).

Тип стерильности Ogura (*ogu*) впервые был описан у японского подвида редиса (*Raphanus sativus* L.) (Ogura, 1968). ЦМС Ogura характеризуется стабильностью проявления, уменьшением размера цветков и изменением формы лепестков. Цитоплазма *ogu* была перенесена в растения рода *Brassica*, сначала в капусту (*B. oleracea* L.), а затем в рапс (Heyn, 1976; Motegi et al, 2003). Был использован метод соматической гибридизации с последующим отбором рекомбинантов с нормальными хлоропластами (Rousselle, Bregeon, 1982). Однако растения рапса с этой аллоплазматической ЦМС отличались низким содержанием хлорофилла (в 2 раза меньше, чем у фертильных форм) и недоразвитием нектарников. Результаты транскриптомного анализа показали, что хлороз растений с ЦМС *ogu* обусловлен снижением уровня экспрессии белков тилакоидов и белков, связанных с хлорофиллом (Jeong et al., 2017).

При гистологическом исследовании обнаружены нарушения гаметогенеза на более ранних стадиях, чем у *nap*- и *pol*-CMS. В растениях с мужской стерильностью андроцей был почти полностью атрофирован и заполнен недифференцированными клетками, в мужском мейозе присутствовали мультиваленты (Bartkowiak-Broda et al., 1979). Также было показано, что в онтогенезе признака стерильности у форм с ЦМС *ogu* при одних и тех же генах восстановления фертильности наблюдают эмбриологические различия в постмейотический период – это может быть либо гипертрофия клеток тапетума, либо нарушение целостности микроспор с последующим лизисом их оболочек (Gourret et al., 1992; Lisnyak et al., 2011).

Последовательности митоходриального генома форм с ЦМС *ogu*-типа, в том числе митохондриального гена *orf138* – уникальны и, по-видимому, возникли в результате множественных перестроек последовательностей генома дикого типа (Tanaka et al., 2012). Идентифицировано 9 вариантов митохондриального гена *orf138*, обозначенных от A (происходит от растений редиса дикого типа) до I. Тип F (Kosena, *kos*), выделенный из одноименного японского сорта редиса (Yamagishi, Terachi, 2001), характеризуется делецией 39 пар нуклеотидов в последовательности *orf138*. Разновидность этого типа стерильности – *ogu*-NWSUAF – характеризуется наличием в митохондриальной ДНК одновременно двух маркерных генов, *orf138* и *orf222*. Стерильность *ogu*-NWSUAF отличается стабильным проявлением признака, отсутствием хлороза и хорошей завязываемостью семян (Zhao et al., 2010).

Фертильность пыльцы при ЦМС *ogu* восстанавливается в присутствии доминантного ядерного гена *Rfo*, продуктом которого является митохондриальный PPR-белок (Brown et al., 2003). Ген *Rfo* картирован на одной из хромосом генома C в группе сцепления N19 (Feng et al., 2009). Гомолог этого гена в геноме редиса – *Rfk1* – восстанавливает фертильность пыльцы у форм с ЦМС *kos*-типа (Niemelä et al., 2012; Yamagishi, Bhat, 2014).

ЦМС *ctr* выделена у образцов из сорта 'Tower', устойчивых к гербицидам треазинового ряда. Этот тип отличается от других тем, что в пыльниках стерильных растений на стадии профазы I мейоза дегенерируют материнские клетки пыльцы. Процесс сопровождается пролиферацией тапетума, который образует стомиум пыльника, и пыльца не образуется (Grant et al., 1986).

У отдаленных гибридов дикорастущего вида двурядки стенной (*Diplotaxis muralis* (L.) DC.) и капусты полевой (*Brassica campestris* L.) сорта 'Yukina' была описана стерильность, получившая название ЦМС *mur* (Hinata, Konno, 1979), а затем выявлена также у гибридов двурядки стенной с яровым рапсом сорта 'Regent' (Fan et al., 1985). Однако практического значения этот тип стерильности не имеет, так как полученные с использованием ЦМС *mur* гибриды F_1 рапса имеют низкую завязываемость семян.

Аллоплазматическая ЦМС *oxy* получена в результате повторного беккроссирования синтетического аллоплоида *Brassica oxyrrhina* Coss. (2n = 18, OO) × *B. campestris* (2n = 20, AA) с использованием культуры зародышей. Растения полученной линии, обладавшей ядерным геномом *B. campestris* и цитоплазмой дикорастущего вида *B. oxyrrhina*, характеризовались мелкими, тонкими, нерастрескивающимися пыльниками со стерильной пыльцой (Prakash, Chopra, 1988). Все аллоплазматические линии с геномами культурных видов *Brassica* и цитоплазмой *B. oxyrrhina* страдали от хлороза. Для коррекции этого негативного признака проводили слияние протопластов *B. juncea* (L.) Czern. с ЦМС *oxy* и линий *B. oleracea* с нормальной цитоплазмой, а затем отбирали соматические гибриды с желательными сочетаниями органелл, т. е. хлоропластами *B. oleracea* и рекомбинантными митохондриальными геномами. Новые варианты цитоплазмы *oxy*-типа были перенесены в рапс и показали стабильное наследование (Arumugam et al., 2000).

Альтернативный аллоплазматический тип ЦМС *Nsa* был получен методом соматической гибридизации рапса и горчицы полевой (*Sinapis arvensis* L.) (Hu et al., 2002); из фертильных соматических гибридов отобраны линии, несущие гены восстановления фертильности (Wei et al., 2010). Методом пиросеквенирования ДНК показано, что рекомбинантный митохондриальный геном форм с цитоплазмой *Nsa*-типа содержит последовательности обоих родительских видов, но в большей степени схож с геномом *Sinapis arvensis*; среди обнаруженных последовательностей наиболее вероятными кандидатами являются *orf224*, *orf309* и *orf346*, обладающие химерной и трансмембранной структурой. Этот тип стерильности проявляется стабильно и независимо от условий среды; он рассматривается в качестве весьма перспективного для обеспечения полноты гибридизации (Sang et al., 2019).

ЦМС *inap* была выделена из отдаленного соматического гибрида между рапсом и вайдой красильной (*Isatis indigotica* Fortune). Для ЦМС *inap*-типа характерно превращение тычинок в карпелоидные структуры. Большинство митохондриальных генов у носителей этого типа ЦМС получены от *I. indigotica*, и лишь один оказался рекомбинантным (Kang et al., 2017). Получена линия рапса, несущая ген *Rf*, интрогрессированный от донора митохондриальных генов (Li et al., 2019). Суммарные сведения о генетическом контроле наиболее изученных у рапса типов ЦМС приведены в таблице 2.

Для эффективного использования разнообразия стерильных цитоплазм в селекции рапса необходима их идентификация. Использование классических генетических методов для определения типа стерильности – очень длительный и трудоемкий процесс, требующий тщательного подбора тестеров. Более эффективны в этом плане методы молекулярных маркеров, разработанных на основе нуклеотидных последовательностей ЦМС-генов. Так, для идентификации цитоплазмы Shaan 2A (Havlíčková et al., 2012) были разработаны CAPS-маркеры, а для идентификации широко используемых в селекции цитоплазм *pol*, *nap*, *cam*, *ogu* и *ogu*-NWSUAF применен метод мультиплексной ПЦР (Zhao et al., 2010). С помощью набора из 22 праймеров, отобранных из литературных источников, Домблидес с соавторами в своей работе дифференцировали носителей ЦМС Ogura, *ogu*-NWSUAF, *nap*, *pol*, *cam*, *rad*, *ole* у растений семейства капустных, в том числе и рапса (Domblides et al., 2015).

Поиск и отбор из расщепляющихся гибридных популяций носителей различных аллелей генов *Rf* – центральная проблема при создании родительских линий гибридов. В отличие от метода тест-скрещиваний, методы молекулярных маркеров позволяют во много раз ускорить процесс идентификации желаемых генотипов. Разными группами исследователей разработаны и рекомендованы для использования в маркер-опосредованной селекции (MAS) диагностические молекулярные маркеры (RFLP, AFLP, SCAR, SSR), сцепленные с генами *Rfp* (Jean et al., 1997; Zeng et al., 2009; Li et al. 2011; Liu et al., 2012), *Rfn* (Gaboreau, Brown, 2016) и *Rfo* (Mikolajczyk et al., 2008). На основе опубликованных первичных нуклеотидных последовательностей разработаны аллель-специфичные маркеры для гена *Rfo* (Hu et al., 2008; Afjani et al., 2019).

Новая гибридная система для рапса была изобретена в Германии в фирме NPZ-Lembke и названа как альтернативная ЦМС Male Sterility Lembke (MSL) (Frauen, 1987). На ее основе были созданы двунулевые (не содержащие эруковой кислоты в масле и глюкозинолатов в семенной муке) гибриды F_1 Joker и Pronto озимого

Таблица 2. Генетический контроль некоторых типов ЦМС рапса
Table 2. Genetic control of some CMS types in rapeseed

Тип ЦМС CMS type	Митохондриальный ген ЦМС Mitochondrial CMS gene	Ген восстановления фертильности пыльцы (белок) Fertility restoration gene (protein)	Ссылки References
nap		*Rfn* (PPR)	Liu et al., 2016
	orf 222		Liu et al., 2017
pol		*Rfp* (PPR)	Liu et al., 2012
	orf224		Singh, Brown, 1993
ogu	*orf138*		Yamagishi, Terachi, 2001; Zhao et al., 2010
		Rfo (PPR)	Brown et al., 2003; Feng et al., 2009
kos	делеция 39 пар нуклеотидов	*Rfk1* (PPR)	Yamagishi, Terachi, 2001; Niemelä et al., 2012; Yamagishi, Bhat, 2014
ogu-NWSUAF	*orf138, orf222*		Zhao et al., 2010; Domblides et al., 2015
Nsa	*orf224, orf309, orf346*		Liu et al., 2016; Sang et al., 2019

рапса, внесенные в официальный список Германии в 1995 г. Эта система использует для получения гибридов одновременно как цитоплазматическую, так и ядерную мужскую стерильность. Получен этот тип стерильности от единичной спонтанной мутации, однако источник стерильности и родительские линии являются секретом фирмы, что затрудняет ее изучение. Метод создания гибрида предусматривает использование материнских женских линий с мужской стерильностью (с генотипом *MsMsrfrf*), линий – закрепителей стерильности с мужской фертильностью (с генотипом *msmsrfrf*), основных женских линий с мужской стерильностью (с генотипом *Msmsrfrf*) и гибридных линий. Представлена схема получения таких линий (Stiewe et al., 2010). Кроме этого, предложены маркеры, ассоциированные с аллелями стерильности, фертильности, а также с аллелями, закрепляющими стерильность.

Для промышленного производства гибридов получены патенты на следующие системы: Ogura CMS (во Франции), Polima CMS (в Китае) и MSL CMS (в Германии).

Селекция гибридного рапса в Российской Федерации

В Госреестре Российской Федерации среди вновь включенных позиций за 2017–2020 гг. доля гибридов ярового рапса составляет более 70%, гибридов (и родительских линий для создания гибридов) озимого рапса – свыше 80%. В России районированы гибриды рапса всех ведущих семеноводческих учреждений Европы, Северной Америки и Австралии: Bayer Cropscience AG, Deutsche Saatveredelung AG, KWS Saat SE, Monsanto Saaten GMBH, Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG, Saatveredelung AG (Германия), Cargill Incorporated, Monsanto Technology LLC, Pioneer Overseas Corporation, Pioneer Hi-Bread International INC (США), Caussade Semences SA, Euralis Semences, Limagrain Europe, Sarl Adrien Momont et Fils, Serasem (Франция), Dow Agroscienses, Saatbau Linz Egen, Saatzucht Donau GMBH Cokg (Австрия), Lantmannen SW Seed AB, Svalof Weibull AB, SW Winter Oilseed AB (Швеция), Monsanto International SARL, Syngenta Crop Protection AG (Швейцария), Pacific Seeds PTY LTD (Австралия), РУП НПЦ НАН Беларуси по земледелию. В характеристике гибридов не указывается тип стерильности, но можно предполагать, что гибриды из Франции и США созданы на основе системы ЦМС Ogura, а гибриды немецкой фирмы Lembke – на основе MSL CMS.

В селекционных учреждениях России также ведутся исследования, направленные на создание производственных гибридов рапса: оценка эффекта гетерозиса, подбор пар генотипов для скрещиваний, поиск источников стерильности, разработка схемы семеноводства, изучение особенностей роста и развития гибридов по сравнению с сортами, использование методов ускорения селекционного процесса, улучшение биохимических показателей семян.

Для оценки гетерозиса у рапса во ВНИИ масличных культур имени В.С. Пустовойта (ВНИИМК, Краснодарский край) проведены исследования возможности создания гетерозисных гибридов рапса (Voskresenskaya, Shelkoudenko, 1974). Было показано, что у межсортовых гибридов озимого рапса уровень гетерозиса по урожаю семян в среднем составляет 20,7%, а у ярового – 18,2%. Лучшие гибриды рапса превосходили сорта-стандарты по урожаю семян на 40–60%. Дальнейший анализ проявления гетерозиса по урожайности семян и элементам структуры урожая показал, что у изученных гибридов повышение урожайности семян по сравнению с родительскими образцами происходило за счет образования большего количества ветвей 1-го порядка и, как следствие, увеличения числа стручков на растении; при этом масса 1000 семян и число семян в стручке не изменялись.

Сравнение урожайности семян гибридов рапса в нескольких поколениях подтвердило явление снижения эффекта гетерозиса от F_1 к F_3 (Gorlov, Bochkaryova, 1995). Было проведено сравнительное изучение сортов озимого рапса и районированных в той же зоне иностранных гибридов по урожаю и качеству семян, а также по особенностям роста и развития растений (Gorlov et al., 2015). На основе четырехлетнего изучения образцов (20 в группе сортов и 20 в группе гибридов) было показано, что главным преимуществом гибридов является высокий темп роста и развития растений осенью, в наиболее критичный период развития, что позволяет им лучше перенести неблагоприятные условия перезимовки. Урожай семян гибридов в среднем за три года был на 15% выше урожая сортов. Однако иностранные гибриды в изученной группе характеризовались меньшей масличностью семян и более высоким содержанием глюкозинолатов, чем отечественные сорта.

Подбор исходного материала для селекции рапса на гетерозис проведен также во ВНИИ рапса в Липецке. В результате изучения межсортовых и межлинейных гибридов были выделены образцы ярового рапса 'Andor' (из Канады), 'Шпат' (селекции ВНИИМК) и 'Золотонивский' (Омский СХИ), перспективные для селекции на гетерозис в условиях Центрально-Черноземного региона (Nikonorenkov et al., 1991).

При поиске источников ЦМС во Всероссийском институте генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР) в процессе морфологической оценки образцов коллекционных посевов рапса были обнаружены 2 яровых и 12 озимых сортов с долей стерильных растений от 5 до 50%, а также 2 сорта ярового рапса с полустерильными растениями. Описаны два варианта проявления мужской стерильности, один из которых, по-видимому, имеет цитоплазматическую природу. При анализе результатов гибридизации и самоопыления родительских форм показано, что сорт 'Brongoro', поступивший в коллекцию из Австралии, является закрепителем стерильности для описанной формы (Anashchenko et al., 1989), предположительно ЦМС *nap*. Из сорта 'Tira', полученного из Германии, был выделен источник мужской стерильности. Впоследствии было выявлено, что признак контролируется ядерными генами, а при анализе типа цитоплазмы, проведенном в Институте овощеводства, было установлено, что этот сорт также характеризуется стерильной цитоплазмой типа *nap* (Domblides et al., 2015). В дальнейших опытах, которые проводили совместно с Ленинградским НИИСХ «Белогорка», были использованы два варианта системы ЦМС Polima, полученные из Agriculture Canada Research Station (Saskatoon): на основе сорта 'Regent' и на основе позднеспелого ярового сорта. Идентификация типа цитоплазмы в Институте овощеводства с использованием стандартной и мультиплексной ПЦР подтвердила, что позднеспелая система ЦМС относится к типу Polima, а система на основе сорта 'Regent', возможно, сочетает факторы *pol*- и *nap*-типа (Domblides et al., 2015).

Исследования во ВНИИМК были продолжены с использованием полученной из INRA (Франция) системы ЦМС Ogura, включающей восстановитель фертильности пыльцы на стерильной основе (Bochkaryova et al., 2018).

В результате скрининга рабочей коллекции во ВНИИ рапса был выделен источник ЦМС из немецкого сорта 'Masora', получивший название CMS *mas*, который идентифицирован как тип Polima, причем он сохранял стерильность при высоких температурах. Было установлено, что цитоплазматическая мужская стерильность у выделенной авторами линии из сорта 'Masora' проявляется в присутствии одной пары рецессивных ядерных генов *rfrf* и устойчиво сохраняет стерильность в условиях Центрально-Черноземного региона России. Показано, что полученные опытные гибриды проявляют гетерозисный эффект по продуктивности семян и по вегетативной массе растения (Zhidkova et al., 1997). Помимо этого типа стерильности, во ВНИИ рапса используют систему стерильности Ogura, предоставленную P.B.E. McVetty из университета Winnipeg (Канада) (Karpachev, Pastukhov, 2017).

Для ускорения трудоемкого и длительного процесса получения отцовских линий гибридов во ВНИИ рапса был разработан оригинальный способ создания восстановителей фертильности с использованием культуры гаплоидов, полученных из растений со стерильной цитоплазмой и генами восстановления фертильности. Неоплодотворенные семязачатки вводили в культуру, осуществляли стабилизацию и микроразмножение полученных гаплоидных линий с последующим получением дигаплоидов и в дальнейшем растений – восстановителей фертильности. На эту методику был оформлен патент (Goryagina et al., 2009).

При создании гибридов уделяется внимание не только урожаю семян, но и другим важным для производства признакам, в том числе устойчивости к вредителям. Во ВНИИ рапса разработан способ получения гибридов, устойчивых к поражению распространенным в этой зоне скрытнохоботником (Karpachev, Nikonorenkov, 1994), который состоит в чередовании рядов материнской формы с ЦМС и отцовской формы – восстановителя фертильности, удалении отцовских растений после цветения и выращивании материнской линии до созревания семян. В качестве материнской формы используют растения, обладающие репеллентными свойствами к скрытнохоботнику, а в качестве отцовской – растения, обладающие аттрактивными свойствами к данному вредителю.

В опытах по оценке сортов и линий рапса в качестве родительских форм гибридов во ВНИИМК использовали озимые сорта и инбредные линии 5–7 поколения с высокой общей и специфической комбинационной способностью (Bochkaryova et al., 2019b). У ярового рапса изучали дигаплоидные линии, полученные методом культуры пыльников и изолированных микроспор на основе гибридов F_1 сортов селекции ВНИИМК 'Кубанский', 'Эввин', 'Ярвэлон' с сортами иностранной селекции (Bochkaryova et al., 2019b). Было установлено, что перевод линий рапса с фертильной цитоплазмы на цитоплазму Ogura не оказывает негативного влияния на такие хозяйственные признаки, как урожайность семян, масличность, продолжительность вегетационного периода, высота растения (Bochkaryova et al., 2018). Отсутствие снижения урожая семян при переводе на стерильную цитоплазму подтверждается также данными, полученными во ВНИИ рапса (Karpachev, Pastukhov, 2017). Однако при переносе генов *Rf* в предполагаемые отцовские линии оказалось, что содержание глюкозинолатов в них повышено по сравнению с исходными образцами. Методом инбридинга и последующего отбора удалось создать линии – восстановители фертильности пыльцы с приемлемым уровнем глюкозинолатов в семенах (13,8–17,9 мкмоль/г) (Bochkaryova et al., 2019a). В результате получены первые экспериментальные гибриды озимого рапса, среди которых семь имели урожайность на 23–48% выше стандарта (Gorlova et al., 2019).

В совместных разработках ВИР и Ленинградского НИИСХ «Белогорка» с использованием ЦМС Polima созданы родительские линии гибридов ярового рапса на основе скороспелых и устойчивых к полеганию сортов, пригодных для выращивания в условиях Северо-Западного региона России. В качестве исходного материала были взяты сорта серии «Оредеж» селекции «Белогорки», сорта 'Ратник' и 'Форвард' из ВНИИ рапса, 'Hja 82708' из Финляндии, 'Eho' и 'Jenny' из Швеции и 'Zemu 2080' из Австралии. По результатам Л. П. Бекиш, в конкурсном сортоиспытании экспериментальных гибридов наибольший эффект гетерозиса по урожаю семян показан у гибрида с использованием материнской линии на основе сорта 'Оредеж 3'.

Для подбора оптимальных родительских пар гибридов во ВНИИ рапса скрещивали андроклинные (дигаплоидные) линии, полученные из отечественных сортов, с линией из сорта 'Traiblazer', а андроклинные линии из сортов иностранной селекции – с линией из сорта 'Ратник'. Анализ изменения количественных признаков (урожай семян гибридных растений, масса 1000 семян, высота растений) показал, что влияние специфической комбинационной способности родительских форм на изменчивость большинства количественных признаков выше, а влияние общей комбинационной способности на проявление гетерозиса у гибридного потомства значительно ниже (Karpachev et al., 2015).

Были изучены по биологическим и селекционно ценным характеристикам стерильные линии и восстановители фертильности типов стерильности Polima и Ogura, а также экспериментальные гибриды на их основе. Выявлено, что источник стерильной цитоплазмы существенно не влиял на продуктивность изучаемых образцов, а продуктивность фертильного закрепителя стерильности чаще всего была выше, чем у стерильных образцов. Созданные гибриды F_1 существенно превысили по урожайности стандартный сорт 'Ратник'. Установлено, что для получения гибридов на цитоплазме Polima практический интерес представляет восстановитель LHR-1, а на цитоплазме Ogura – восстановитель RGR-1. При этом восстановитель типа Polima дает более низкий гетерозисный эффект, чем восстановитель типа Ogura (Karpachev, Pastukhov, 2017).

Таким образом, у рапса созданы системы ЦМС на основе различных источников. Изучен генетический контроль проявления стерильности и восстановления фертильности. В селекционных учреждениях России созданы материнские и отцовские линии, а также получены экспериментальные гибриды на основе систем ЦМС Ogura или Polima для условий Краснодарского края, Центрально-Черноземного и Северо-Западного регионов. Использование молекулярных маркеров позволит ускорить процесс гетерозисной селекции рапса.

Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № *0662-2019-0001 «Коллекция масличных и прядильных культур ВИР: поддержание, изучение, расширение генетического разнообразия», номер государственной регистрации АААА-А19-119013090159-5.*

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", State Registration No. AAAA-A*19-119013090159-5.*

References/Литература

Afjani J.A., Najafabadi M.S., Mirfakhraei R.G. Gene-based marker to differentiate among B, A, and R lines in hybrid production of rapeseed ogura system. *Iranian Journal of Biotechnology*. 2019;17(3):e1870. DOI: 10.29252/ijb.1870

Anashchenko A.V., Gavrilova V.A., Dubovskaya A.G. Male sterility in canola. *Bulletin of Applied Botany, Genetics and Plant Breeding*. 1989;125:86-91. [in Russian] (Анащенко А.В., Гаврилова В.А., Дубовская А.Г. Мужская стерильность у рапса. *Сборник научных трудов по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 1989;125:86-91).

Arumugam N., Mukhopadhyay A., Gupta V.Y., Sodhi S., Verma J.K., Pental D. et al. Somatic cell hybridization of 'oxy' CMS *Brassica juncea* (AABB) with *B. oleracea* (CC) for correction of chlorosis and transfer of novel organelle combinations to allotetraploid brassicas. *Theoretical and Applied Genetics*. 2000;100:1043-1049. DOI: 10.1007/s001220051385

Bartkowiak-Broda I., Rousselle P., Renard M. Investigations of two kinds of cytoplasmic male sterility in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Genetica Polonica*. 1979;20(4):487-497.

Bochkaryova E.B., Gorlova L.A., Serdyuk V.V., Strelnikov E.A. Breeding of winter rapeseed inbred lines for the development of parent forms for hybrids. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2019a;180(4):121-125. [in Russian] (Бочкарева Э.Б., Горлова Л.А., Сердюк В.В., Стрельников Е.А. Селекция инбредных линий рапса озимого для создания родительских форм гибридов. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2019a;180(4):121-125). DOI: 10.30901/2227-8834- 2019-4-121-125

Bochkaryova E.B., Gorlova L.A., Serdyuk V.V., Strelnikov E.A. Breeding value of dihaploid lines of spring rapeseed (*Brassica napus* L.). *Oil Crops.* 2019b;4(180):18-22. [in Russian] (Бочкарева Э.Б., Горлова Л.А., Сердюк В.В., Стрельников Е.А. Селекционная ценность дигаплоидных линий рапса ярового (*Brassica napus* L.). *Масличные культуры.* 2019b;4(180):18-22). DOI: 10.25230/2412-608X-2019-4-180-18-22

Bochkaryova E.B., Gorlova L.A., Serdyuk V.V., Strelnikov E.A. The results and perspectives of breeding of winter rapeseed hybrids in VNIIMK. *Oil Crops. Scientific and Technical Bulletin of VNIIMK*. 2018;4(176):48-57. [in Russian] (Бочкарева Э.Б., Горлова Л.А., Сердюк В.В., Стрельников Е.А. Результаты и перспективы селекции гибридов рапса озимого во ВНИИМК. *Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур*. 2018;4(176):48-57). DOI: 10.25230/2412-608X-2018-4-176-48-57

Brandle J.E., McVetty P.B.E. Geographical diversity, parental selection and heterosis in oilseed rape. *Canadian Journal of Plant Sciences*. 1990;70:935-940.

Brown G.G., Formanová N., Jin H., Wargachuk R., Dendy C., Patil P. et al. The radish *Rfo* restorer gene of *Ogura* cytoplasmic male sterility encodes a protein with multiple pentatricopeptide repeats. *Plant Journal*. 2003;35(2):262-272. DOI: 10.1046/j.1365-313X.2003.01799.x

Domblides E.A., Domblides A.S., Zayachkovskaya T.V., Bondareva L.L. Identification of cytoplasm types in accessions of the family Brassicaceae (Brassicaceae Burnett) with DNA markers. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2015;19(5):529-537. [in Russian] (Домблидес Е.А., Домблидес А.С., Заячковская Т.В., Бондарева Л.Л. Определение типа цитоплазмы у растений семейства Капустные (Brassicaceae Burnett) с помощью ДНК маркеров. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2015;19(5):529-537). DOI: 10.18699/VJ15.069

Fan Z., Stefansson B.R., Sernyk J.L. Maintainers and restorers for three male-sterility inducing cytoplasms in rape (*Brassica napus* L.). *Canadian Journal of Plant Sciences*. 1986;66:229-234.

Feng J., Primomo V., Li Z., Zhang Y., Jan C.C., Tulsieram L. et al. Physical localization and genetic mapping of the fertility restoration gene *Rfo* in canola (*Brassica napus* L.). *Genome*. 2009;52(4):401-407. DOI: 10.1139/g09-016

Frauen M. Aspects of seed production of hybrid varieties of rape. In: W.P. Feistritzer, A. Fenwick Kelly. *Hybrid seed production of selected cereal and vegetable crops. FAO Plant Production and Protection Papers. Issue 82.* Rome: FAO; 1987. p.281-300.

Fu T.D. Production and research of rapeseed in the People's Republic of China. *Eucarpia Cruciferae Newsletter*. 1981;6:6-7.

Fujii S., Bond C.S., Small I.D. Selection patterns on restorer-like genes reveals a conflict between nuclear and mitochondrial genomes throughout angiosperm evolution. *PNAS*. 2011;108(4):1723-1728. DOI: 10.1073/pnas.1007667108

Gaborieau L., Brown G.G. Comparative genomic analysis of the compound *Brassica napus Rf* locus. *BMC Genomics*. 2016;17:834. DOI: 10.1186/s12864-016-3117-0

Goncharov S.V., Gorlova L.A. Stronger rapeseed competition in Russia. *Oil Crops. Scientific and Technical Bulletin of VNIIMK*. 2018;1(173):36-41. [in Russian] (Гончаров С.В., Горлова Л.А. Изменение сортимента рапса в России в результате конкуренции на рынке семян. *Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур*. 2018;1(173):36-41). DOI: 10.25230/2412-608X-2018-1-173-36-41

Gorlov S.L., Bochkaryova E.B. Manifestation of the heterosis effect in intervarietal hybrids of winter rape. *Oil Crops. Scientific and Technical Bulletin of VNIIMK*. 1995;116:17-22. [in Russian] (Горлов С.Л., Бочкарева Э.Б. Проявление гетерозисного эффекта у межсортовых гибридов озимого рапса. *Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всесоюзного научно-исследовательского института масличных культур*. 1995;116:17-22).

Gorlov S.L., Gorlova L.A., Bochkaryova E.B., Serdyuk V.V. The results of trials of winter rapeseed cultivars and hybrids in a central zone of the Krasnodar region. *Oil Crops. Scientific and Technical Bulletin of VNIIMK*. 2015;1(161):52-56. [in Russian] (Горлов С.Л., Горлова Л.А., Бочкарева Э.Б., Сердюк В.В. Результаты испытания сортов и гибридов рапса озимого в условиях центральной зоны Краснодарского края. *Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур*. 2015;1(161):52-56).

Gorlova L.A., Bochkaryova E.B., Strelnikov E.A., Serdyuk V.V. The use of classical and modern methods in rapeseed (*Brassica napus*) breeding at VNIIMK. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2019;180(4):126-131. [in Russian] (Горлова Л.А., Бочкарева Э.Б., Стрельников Е.А., Сердюк В.В. Использование классических и современных методов в селекции рапса (*Brassica napus*) во ВНИИМК. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2019;180(4):126-131). DOI: 10.30901/2227-8834-2019-4-126-131

Goryagina E.B., Nikonorenkov V.A., Podvigina O.A., Karpachev V.V. A method for creating spring rape fertility restoring agents (*Brassica napus* L.) (Sposob sozdaniya vosstanoviteley fertilnosti yarovogo rapsa [*Brassica napus* L.]). Rusian Federation; patent number: 2366705; 2009. [in Russian] (Горягина Е.Б., Никоноренков В.А., Подвигина О.А., Карпачев В.В. Способ создания восстановителей фертильности ярового рапса (*Brassica napus* L.). Российская Федерация; патент № 2366705; 2009).

Gourret J.P., Delourme R., Renard M. Expression of *ogu* cytoplasmic male sterility in cybrids of *Brassica napus*. *Theoretical and Applied Genetics*. 1992;83:549-556. DOI: 10.1007/BF00226898

Grant I., Beversdorf W.D., Peterson R.L. A comparative light and electron microscopic study of microspore and tapetal development in male fertile and cytoplasmic male sterile oilseed rape (*Brassica napus*). *Canadian Journal of Botany*. 1986;64(5):1055-1068.

Hanson M.R., Bentolila S. Interactions of mitochondrial and nuclear genes that affect male gametophyte development. *The Plant Cell*. 2004;16:154-169. DOI: 10.1105/tpc.015966

Havlíčková L., Čurn V., Jozová E., Kučera V., Vyvadilová M., Klíma M. Sequence analysis of the mtDNA region correlated with *Shaan* 2A cytoplasmic male sterility in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding.* 2012;48(3):139-142. DOI: 10.17221/144/2012-CJGPB

Heyn F.W. Transfer of restorer genes from *Raphanus* to cytoplasmic male sterile *Brassica napus*. *Cruciferae Newsletter*. 1976;1:15-16.

Hinata K., Konno N. Studies on a male sterile strain having the *Brassica campestris* nucleus and the *Diplotaxis muralis* cytoplasm. 1. On the breeding procedure and some characteristics of the male sterile strain. *Japanese Journal of Breeding*. 1979;29(4):305-311.

Hu Q, Andersen S, Dixelius C, Hansen L. Production of fertile intergeneric somatic hybrids between *Brassica napus* and *Sinapis arvensis* for the enrichment of the rapeseed gene pool. *Plant Cell Reports*. 2002;21(2):147-152. DOI: 10.1007/s00299-002-0491-7

Hu X., Sullivan-Gilbert M., Kubik T., Danielson J., Hnatiuk N., Marchione W. et al. Mapping of the Ogura fertility restorer gene *Rfo* and development of *Rfo* allele-specific markers in canola (*Brassica napus* L.). *Molecular Breeding*. 2008;22(4):663-674. DOI: 10.1007/s11032-008-9207-1

Jean M., Brown G.G., Landry B.S. Genetic mapping of nuclear fertility restorer genes for the 'Polima' cytoplasmic male sterility in canola (*Brassica napus* L.) using DNA markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 1997;95:321-328. DOI: 10.1007/s001220050566

Jeong S.W., Yi H., Song H., Lee S.S., Park Y.I., Hur Y. Chlorosis of Ogura-CMS *Brassica rapa* is due to down-regulation of genes for chloroplast proteins. *Journal of Plant Biotechnology*. 2017;44:115-124. DOI: 10.5010/JPB.2017.44.2.115

Ivanov M.K., Dymshits G.M. Cytoplasmic male sterility and restoration of pollen fertility in higher plants. *Russian Journal of Genetics*. 2007;43(4):354-368. DOI: 10.1134/S1022795407040023

Kang L., Li P., Wang A., Ge X., Li Z. A novel cytoplasmic male sterility in *Brassica napus* (inap CMS) with carpelloid stamens via protoplast fusion with Chinese woad.

Frontiers in Plant Science. 2017;8:529. DOI: 10.3389/fpls.2017.00529

Karpachev V.V., Nikonorenkov V.A. The method of obtaining hybrid rapeseed seeds (*Brassica napus* L.) (Sposob polucheniya gibridnykh semyan rapsa [*Brassica napus* L.]). Russian Federation; patent number: 201330; 1994. [in Russian] (Карпачев В.В., Никоноренков В.А. Способ получения гибридных семян рапса (*Brassica napus* L.). Российская Федерация; патент № 2013042; 1994).

Karpachev V.V., Pastukhov I.O. Evaluation of new material for heterotic breeding of spring rape created on the basis of two CMS systems. *Vestnik of Voronezh State Agrarian University*. 2017;3(54):31-36. [in Russian] (Карпачев В.В., Пастухов И.О. Оценка нового материала для гетерозисной селекции ярового рапса, созданного на основе двух систем ЦМС. *Вестник Воронежского государственного аграрного университета*. 2017;3(54):31-36.). DOI: 10.17238/issn2071-2243.2017.3.31

Karpachev V.V., Pastukhov I.O., Vlasova A.N. Combination ability of rape in the system of diallel crossings (Kombinatsionnaya sposobnost rapsa v sisteme diallelnykh skreshchivaniy). In: *Proceedings of the International Scientific and Practical Internet Conference "Agrarian Science: Development and Prospects", October 5, 2015* (*Materialy mezhdunarodnoy nauchno-praktocheskoy Internet-konferentsii 'Agrarganaya nauka: razvitiye i perspektivy", 5 oktyabrya 2015 g.*). Nikolaev, Ukraine; 2015. p.80-81. [in Russian] (Карпачев В.В., Пастухов И.О., Власова А.Н. Комбинационная способность рапса в системе диаллельных скрещиваний. *Материалы Международной научно-практической Интернет-конференции «Аграрная наука: Развитие и перспективы», 5 октября. 2015* г. Николаев, Украина; 2015. С. 80-81). URL: http://vniirapsa.ru/Documents/Konferencii/2015/Sbornik2015.pdf (дата обращения: 05.03.2020)

Li P., Kang L., Wang A., Cui C., Jiang L., Guo S. et al. Development of a fertility restorer for *inap* CMS (*Isatis indigotica*) *Brassica napus* through genetic introgression of one alien addition. *Frontiers in Plant Science.* 2019;10:257. DOI: 10.3389/fpls.2019.00257

Li Y., Liu Z., Cai Q., Yang G.S., He Q.B., Liu P.W. Identification of a microsatellite marker linked to the fertility-restoring gene for a polima cytoplasmic male-sterile line in *Brassica napus* L. *African Journal of Biotechnology*. 2011;10(47):9563-9569. DOI: 10.5897/AJB11.1009

Lisnyak A.D., Pershin A.F., Ivanov M.V. Features of CMS in winter rape hybrids of Ukrainian breeding. *Scientific and Technical Bulletin of the Institute of Oil Crops, NAAS*. 2011;16:21-26. [in Russian] (Лисняк А.Д., Першин А.Ф., Иванов М.В. Особенности ЦМС у гибридов озимого рапса украинской селекции. *Науково-технічний бюлетень Інституту олійних культур НААН*. 2011;16:21-26).

Liu Z., Dong F., Wang X., Wang T., Su R., Hong D. et al. A pentatricopeptide repeat protein restores *nap* cytoplasmic male sterility in *Brassica napus*. *Journal of Experimental Botany.* 2017;68(15):4115-4123. DOI: 10.1093/jxb/erx239

Liu Z., Liu P., Long F., Hong D., He Q., Yang G. Fine mapping and candidate gene analysis of the nuclear restorer gene *Rfp* for *pol* CMS in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2012;125(4):773-779. DOI: 10.1007/s00122-012-1870-2

Liu Z., Yang Z., Wang X., Li K., An H., Liu J. et al. A mitochondria-targeted PPR protein restores *pol* cytoplasmic male sterility by reducing *orf*224 transcript levels in oilseed rape. *Molecular Plant*. 2016;9(7):1082-1084. DOI: 10.1016/j.molp.2016.04.004

Motegi T., Nou I.S., Zhou J., Kanno A., Kameya T., Hirata Y. Obtaining an Ogura-type CMS line from asymmetrical protoplast fusion between cabbage (fertile) and radish (fertile). *Euphytica*. 2003;129:319-323. DOI: 10.1023/A:1022284803689

Niemelä T., Seppänen M., Badakshi F., Rokka V.M., Heslop-Harrison J.S. Size and location of radish chromosome regions carrying the fertility restorer *Rfk1* gene in spring turnip rape. *Chromosome Research*. 2012;20(3):353-361. DOI: 10.1007/s10577-012-9280-5

Nikonorenkov V.A., Karpachev V.V., Zhidkova E.N. Spring rapeseed accessions for heterosis breeding (Obraztsy yarovogo rapsa dlya selektsii na geterozis). *Selektsiya i semenovodstvo = Plant Breeding and Seed Production*. 1991;5:23. [in Russian] (Никоноренков В.А., Карпачев В.В., Жидкова Е.Н. Образцы ярового рапса для селекции на гетерозис. *Селекция и семеноводство*. 1991;(5):23).

Ogura H. Studies on the new male sterility in Japanese radish, with special reference to the utilization of this sterility towards the practical raising of hybrid seeds. *Memories of the Faculty of Education Kagoshima University.* 1968;6(2):39-78.

Prakash S., Chopra V.L. Synthesis of alloplasmic *Brassica campestris* as a new source of cytoplasmic male sterility. *Plant Breeding*. 1988;101(3):253-255. DOI: 10.1111/j.1439-0523.1988.tb00295.x

Rousselle P., Bregeon M. Premiers résultats d'un programme d'introduction de l'andrastérilité "Ogura" du radis ches le colza. *Agronomie*. 1982;2(9):859-864. [in French] DOI: 10.1051/agro:19820910

Rousselle P., Renard M. Study of a cytoplasmic male sterility in rapeseed (*B. napus*). *Cruciferae Newsletter.* 1978;3:40-41.

Sang S.F., Mei D.S., Liu J., Zaman Q.U., Zhang H.Y., Hao M.Y. et al. Organelle genome composition and candidate gene identification for *Nsa* cytoplasmic male sterility in *Brassica napus*. *BMC Genomics*. 2019;20(1):813. DOI: 10.1186/s12864-019-6187-y

Shen J., Wang H.,·Fu T.,·Tian B. Cytoplasmic male sterility with self-incompatibility, a novel approach to utilizing heterosis in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Euphytica*. 2008;162(1):109-115. DOI: 10.1007/s10681-007-9606-0

Singh M., Brown G.G. Characterization of expression of a mitochondrial gene region associated with the brassica "Polima" CMS: development influences. *Current Genetics.* 1993;24(4):316-322. DOI: 10.1007/BF00336783

Stiewe G., Pleines S., Coque M., Gielen J. New hybrid system for *Brassica napus*. European Union; patent number: EP 2220930 A2; 2010. Available from: https://patentimages.storage.googleapis.com/57/3b/0a/a43c20da7c6354/EP2220930A2.pdf [accessed May 06, 2020].

Tanaka Y., Tsuda M., Yasumoto K., Yamagishi H., Terachi T. A complete mitochondrial genome sequence of Ogura-type male-sterile cytoplasm and its comparative analysis with that of normal cytoplasm in radish (*Raphanus sativus* L.). *BMC Genomics*. 2012;13:352. DOI: 10.1186/1471-2164-13-352

Thompson K.F. Cytoplasmic male-sterility in oil-seed rape. *Heredity*. 1972;29(2):253-257. DOI: 10.1038/hdy.1972.89

Voskresenskaya G.S., Shelkoudenko V.G. Heterosis in intervarietal winter rape hybrids in reciprocal crosses (Geterozis u mezhsortovykh gibridov ozimogo rapsa v retsiproknykh skreshchivaniyakh). *Agricultural Biology*. 1974;9(4):529-533. [in Russian] (Воскресенская Г.С., Шелкоуденко В.Г. Гетерозис у межсортовых гибридов озимого рапса в реципрокных скрещиваниях. *Сельскохозяйственная биология*. 1974;9(4):529-533).

Wang Y., Ma S., Wang M., Zheng X., Gu M., Hu S. Sequence analysis of the gene correlated with cytoplasmic male sterility (CMS) in rape-seed (*Brassica napus*) Polima and Shaan 2A. *Chinese Science Bulletin*. 2002;47:124-128. DOI: 10.1360/02tb9028

Wei W., Li Y., Wang L., Liu S., Yan X., Mei D. et al. Development of a novel *Sinapis arvensis* disomic addition line in *Brassica napus* containing the restorer gene for *Nsa* CMS and improved resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* and pod shattering. *Theoretical and Applied Genetics*. 2010;120(6):1089-1097. DOI: 10.1007/s00122-009-1236-6

Yamagishi H., Bhat S.R. Cytoplasmic male sterility in Brassicaceae crops. *Breeding Science*. 2014;64(1):38-47. DOI: 10.1270/jsbbs.64.38

Yamagishi H., Terachi T. Intra-and inter-specific variations in the mitochondrial gene *orf138* of Ogura-type male-sterile cytoplasm from *Raphanus sativus* and *Raphanus raphanistrum*. *Theoretical and Applied Genetics*. 2001;103:725-732. DOI: 10.1007/s001220100614

Yang G.S., Fu T.D., Yang X.N. Studies on the ecotypical male sterile line of *Brassica napus* L. *Acta Agronomica Sinica*. 1995;21(2):29–135.

Zeng F.,·Yi B.,·Tu J.,·Fu T. Identification of AFLP and SCAR markers linked to the male fertility restorer gene of *pol* CMS (*Brassica napus* L.). *Euphytica*. 2009;165:363-369. DOI: 10.1007/s10681-008-9799-x

Zhao H.X., Li Z.J., Hu S.W., Sun G.L., Chang J.J., Zhang Z.H. Identification of cytoplasm types in rapeseed (*Brassica napus* L.) accessions by multiplex PCR assay. *Theoretical and Applied Genetics*. 2010;121(4):643-650. DOI: 10.1007/s00122-010-1336-3

Zhidkova E.N., Karpachev V.V., Nikonorenkov V.A. New CMS source for rapeseed breeding (Novy istochnik TsMS dlya selektsii rapsa). *Selektsiya i semenovodstvo = Plant Breeding and Seed Production*. 1997;(2):52. [in Russian] (Жидкова Е.Н., Карпачев В.В., Никоноренков В.А. Новый источник ЦМС для селекции рапса. *Селекция и семеноводство*. 1997;(2):52).

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

Анисимова И.Н., Дубовская А.Г. Системы ЦМС у рапса и их использование в селекции отечественных гибридов. Труды по прикладнойботанике,генетикеиселекции.2020;181(3):171-180. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-171-180

Anisimova I.N., Dubovskaya A.G. CMS systems in rapeseed and their use in the breeding of domestic hybrids. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(3):171-180. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-171-180

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/10.30901/2227-8834-2020-3-171-180

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
Anisimova I.N. https://orcid.org/0000-0003-0474-8860
Dubovskaya A.G. https://orcid.org/0000-0003-2487-5912

Генетическое разнообразие коллекции бобов (*Vicia faba*) ВИР и его использование в селекции

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-181-189

УДК 635.65:631.523
Поступление/Received: 26.04.2020
Принято/Accepted: 21.09.2020

Genetic diversity of broad beans (*Vicia faba*) in the collection of the Vavilov Institute and its use in breeding

С. М. МАМЕДОВА, М. А. ВИШНЯКОВА*

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44
** m.vishnyakova.vir@gmail.com*

S. M. MAMEDOVA, M. A. VISHNYAKOVA*

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia
** m.vishnyakova.vir@gmail.com*

В статье приведены краткие сведения об истории коллекции конских бобов (*Vicia faba* L.) ВИР, ее составе, направлениях изучения и значении для отечественной селекции. Начало коллекции было положено в 1916 г. сборами Н. И. Вавилова на Памире. В настоящее время в коллекции 1733 образцов бобов из 67 стран мира, привлеченных путем обмена и выписки из зарубежных генбанков, полученных от селекционеров нашей страны и зарубежья, собранных в многочисленных экспедициях. Бобы конские – культура продовольственного (овощного) и кормового направлений использования, адаптированная к большому диапазону широт и высот. Большая часть коллекции представлена образцами кормового назначения. Главным принципом привлечения материала в коллекцию являются приоритеты отечественной селекции. В статье приведены сведения о ботаническом, эколого-географическом разнообразии коллекции бобов ВИР, актуальных вопросах ее изучения, а также использования в селекционном процессе. Описаны биологические особенности культуры, особенности овощных и кормовых образцов, исходный материал для актуальных направлений селекции. Представлен краткий анализ современного состояния селекции бобов в Российской Федерации и вклад ВИР в этот процесс, выразившийся не только в предоставлении исходного материала, но и в создании нескольких кормовых и овощных сортов. В настоящее время в Государственном реестре селекционных достижений РФ зарегистрировано 30 сортов бобов, из них 28 отечественной селекции.

Ключевые слова: конские бобы, сорт, признак, кормовые бобы, овощные бобы.

The paper presents brief information about the history of the collection of broad (horse) beans (*Vicia faba* L.) at the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), its composition, research trends, and significance for domestic breeding. The collection started in 1916 with Vavilov's collecting activities in the Pamirs. Currently, the collection consists of 1733 accessions from 67 countries, obtained from foreign genebanks through germplasm exchange and seed requests, received from domestic and foreign breeders, and collected in numerous expeditions. Broad beans are used for food (vegetable) and feed; they are adapted to a wide range of latitudes and altitudes. A larger part of the collection is represented by fodder accessions. The main principle whereupon the collection is being augmented is the priorities of domestic breeding. The paper provides information on the botanical, environmental and geographical diversity of VIR's broad bean collection, its level of studiedness, current research issues, and the use of the collection in the breeding process. The crop's biological traits, characteristics of vegetable and fodder accessions, current breeding trends and source material for breeding are described. A brief analysis of the current status of broad bean breeding in Russia and VIR's contribution to this process is presented, including the Institute's direct involvement in the development of several cultivars of both feed and food uses. Presently, 30 broad bean cultivars are listed in the State Register of Breeding Achievements of the Russian Federation, and 28 of them are the products of domestic breeding.

Key words: broad beans, cultivar, traits, fodder beans, vegetable beans.

Введение

Бобы конские – (*Vicia faba* L.), называемые в Европе также английскими или виндзорскими, – культура продовольственного (овощного) и кормового, направлений использования, адаптированная к большому диапазону широт и высот. Наряду с другими достоинствами зернобобовых они отличаются высокой потенциальной урожайностью семян и зеленой массы, относительной неполегаемостью стебля, содержат большое количество белка в семенах (до 34,5%) и крахмала (33,2–53,4%) (Zong et al., 2006). В настоящее время бобы производят в мире на 2,5 млн га. Мировые лидеры по производству этой культуры – Китай, Эфиопия, Австралия, Великобритания и Марокко (FAOSTAT, 2018).

Бобы – одна из самых древних культур, доместицированных в западной Сирии в непосредственной близости от Средиземного моря в 10-м тысячелетии до н. э. (Tanno, Wilcox, 2006). Район Юго-Западной Азии с восточными границами у Гималаев рассматривают как главный (первичный) центр происхождения и формообразования *V. faba*, Средиземноморский регион – в качестве вторичного (Muratova, 1931; Maxted, 1993).

Происхождение вида до сих пор вызывает множество дискуссий, поскольку его дикий предок не известен (Muratova, 1931; Cubero, 1982; Kosterin, 2014). Многочисленные попытки скрестить представителей *V. faba* с другими видами рода, в том числе наиболее морфологически близкими видами секции *Narbonensis* (Radzhi) Maxted, не увенчались успехом (Ramsay et al., 1984; Cubero, 1982;

Hanelt, Mettin, 1989). Виды этой секции имеют диплоидный набор 2n = 14, в то время как у бобов – 2n = 12. Размер генома *V. faba* (13,3 × 10^9 пн), называемый гигантским, один из самых больших в роде *Vicia* и в целом у зерновых бобовых. Это затрудняет картирование генов и идентификацию локусов количественных признаков (Ellwood et al., 2008). Эксперименты с использованием белковых маркеров также не подтвердили близкого родства между *V. faba* и видами секции *Narbonensis*, как это прежде предполагалось на основании морфологического сходства (Jaaska, 1997). Все эти факты свидетельствуют о том, что *V. faba* генетически далек от других видов рода *Vicia*. Это дало основание для выделения его в отдельную секцию *Faba* (Mill.) Ledeb. (Kupicha, 1976; Maxted, 1993). Между тем вопрос о диком предке не теряет актуальности в связи с возможностью расширения генетического разнообразия культуры.

В средние века бобы были превалирующей зернобобовой культурой в Европе до интродукции в нее фасоли, привезенной из Нового Света (Biddle, 2017). Наряду с горохом и чечевицей бобы были также одной из основных зернобобовых культур в царской России (Tanfilyev, 1923). В СССР наибольшие площади бобы занимали в 1930–1960-х гг. – до 684 тыс. га в 1962 г. (Jenson, 1962). С середины 1960-х гг. произошло резкое сокращение посевных площадей вследствие широкого внедрения посевов кукурузы, а позднее – сои и нута. В настоящее время производственные площади кормовых бобов в РФ – 6620 га (Faostat, 2018), данных о производстве овощных бобов нет, известно только, что их охотно выращивают в мелких фермерских и личных хозяйствах.

Ограниченное производство этой ценной сельскохозяйственной культуры в нашей стране совершенно не оправданно. В течение долгого времени скромные масштабы имела и селекция бобов в РФ. Одним из наиболее популярных сортов продолжительное время оставался сорт ‘Русские черные’, районированный в 1942 г. Однако в последнее время намечаются позитивные сдвиги как в производстве, так и в селекции культуры. В Госреестре селекционных достижений РФ зарегистрировано 30 сортов, из них 28 отечественной селекции. Заметная роль в этом процессе принадлежит ВИР (State register…, 2019).

Коллекция ВИР – неизменный источник исходного материала для создания отечественных сортов бобов. Наиболее подробно ботаническое и агробиологическое разнообразие собранного в коллекции генофонда было изучено в 1930-х гг., когда в ВИР была издана монография В. С. Муратовой «Бобы» (Muratova, 1931). Н. И. Вавилов очень ценил эту работу и постоянно ставил ее в пример в письмах коллегам в качестве правильной монографии по изучению культурной флоры (Vishnyakova, Yankov, 2017). В дальнейшем работы с коллекцией бобов ВИР, а также их изучение были продолжены сотрудниками ВИР И. И. Мирошниченко, Т. А. Волузневой, Р. Б. Деминой, С. В. Булынцевым.

Цель данной статьи – сделать обзор имеющегося в коллекции бобов генетического разнообразия, особенностей мобилизации его в коллекцию, кратких сведений о биологии культуры, актуальных вопросов изучения на современном этапе, а также использования коллекции в селекционном процессе.

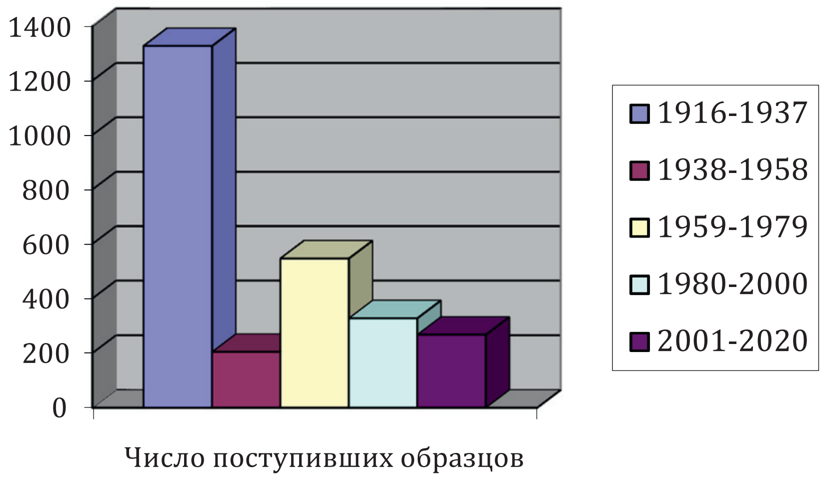
История коллекции

Начало коллекции бобов ВИР положили образцы с Памира (Таджикистан), собранные в 1916 г. Н. И. Вавиловым. Впоследствии Н. И. Вавилов доказал значение данной территории как одного из очагов формообразования культурных растений, в частности, разных разновидностей бобов. На Памире он впервые установил высотные пределы возделывания этой культуры – 2510 м (Vavilov, 1987), годы спустя из Афганистана и Абиссинии он привезет семена бобов, возделываемых на высоте 3000 м. В тропической Америке экспедиции ВИР встретят их на высоте 3700 м (Muratova, 1931).

Самые крупные поступления в коллекцию произошли в 1916–1937 гг. Образцы были привезены из экспедиций Н. И. Вавилова на Памир, в Туркестан, по Средиземноморью (1926–1927 гг.), поступили через него с Всероссийской сельскохозяйственной выставки (1923 г.), а также из экспедиций Е. Г. Черняковской в Персию (1921 г.), П. М. Жуковского в Малую Азию (1926-1927 гг.), Н. И. Вавилова и В. Н. Лебедева в Афганистан (1924 г.) и др. Только из Средиземноморской экспедиции Н. И. Вавилов привез 95 образцов бобов (Vishnyakova, 2012).

В последующие годы коллекция пополнялась материалом, как привезенным из экспедиций, так и за счет поступлений от селекционеров и по международному обмену (рис. 1).

Рис. 1. Динамика поступления образцов бобов в коллекцию ВИР с 1916 по 2020 г.
Fig. 1. The dynamics of the introduction of broad bean accessions into the VIR collection in 1916–2020



В настоящее время в коллекции 1733 образца бобов из 67 стран мира. В таблице и на рисунке 2 представлено разнообразие коллекции по происхождению. Наибольшую часть коллекции составляют поступления 1922–1991 гг. с территории бывшего СССР.

Мобилизация нового материала в коллекцию в наши дни проводится с учетом приоритетов отечественной селекции: высокой семенной продуктивности, скороспелости, детерминантного типа роста стебля, одновременного созревания бобов, устойчивости к бо-

Таблица. Географическое происхождение образцов коллекции бобов ВИР

Table. Geographic origin of broad bean accessions preserved in the VIR collection

Регионы и страны мира / Regions and countries of the world		Число образцов / Number of accessions	%
СССР*		706	47,0
Российская Федерация (РФ)**		42	2,8
Страны СНГ		51	3,4
Европа	Германия	102	6,8
	Великобритания	81	5,4
	Франция	50	3,3
	Остальные страны Европы	97	6,4
Китай		75	5,0
Страны Восточной Азии		67	4,5
Африка		128	8,5
Остальные страны мира		103	6,8

* – сумма образцов из всех республик, включая РСФСР (до 1991 г.)
** – после 1991 г.
* – aggregate number of accessions from all the republics of the USSR, including Russia (before 1991)
** – after 1991

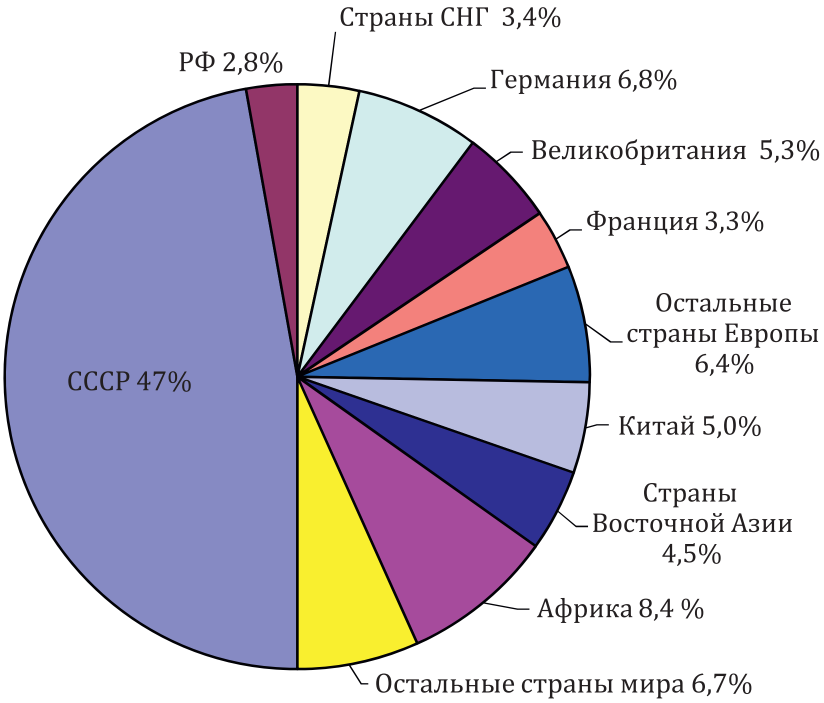


Рис. 2. Географическое происхождение образцов

Fig. 2. Geographic origin of accessions

лезням, основные из которых аскохитоз, ботридиоз (шоколадная пятнистость и серая гниль) и фузариозное увядание. Актуальное направление современной селекции – улучшение качественных характеристик создаваемых сортов: повышение содержания белка в семенах и зеленой массе, минимизация концентрации антипитательных веществ в семенах – танина, вицина и конвицина.

В этой связи ценным поступлением в коллекцию явился набор образцов, отличающихся высоким качеством семян, в частности отсутствием или пониженным содержанием в них фенольных соединений – танинов, из INRA (Institut national de la recherche agronomique, Франция) (Vishnyakova et al., 2012). В коллекции имеются и образцы, характеризующиеся низким содержанием других антипитательных веществ – гликозидов вицина и конвицина. Это преимущественно современные сорта европейского происхождения.

Поступления из европейских стран последних лет содержат также сорта с детерминантным типом роста стебля. Они характеризуются одновременным созреванием, неполегаемостью, устойчивостью к осыпанию плодов.

В зарубежных поступлениях последних лет преобладают образцы из Китая, Сирии, Марокко и Португалии – стран, где бобы производятся в сравнительно больших масштабах.

Состав коллекции

По статусу образцы распределены следующим образом: селекционные сорта (AC) – (27,8%), местные сорта (LR) – (56,7%), селекционные линии (LI) – (15,2%) (Vishnyakova et al., 2018).

В работе с коллекцией мы придерживаемся ботанической классификации В. С. Муратовой (Muratova, 1931).

Вид *Vicia faba* L. она разделяет на два подвида:

1. subsp. *paucijuga* (Alef.) Murat. – эндемичные формы из Индии (короткий и тонкий стебель, очень мелкие семена);
2. subsp. *eu-faba* Murat. – все другие формы из различных стран мира.

Подвид содержит три разновидности в соответствии с массой 1000 семян:

1. var. *minor* Beck. (мелкие 400–600 г);
2. var. *equina* Pers. (средние 600–900 г);
3. var. *major* Harz. (крупные, более чем 900 г) (Muratova, 1931).

Анализ внутривидовой изменчивости признаков на территории естественного ареала вида (Средиземноморье, Юго-Западная, Центральная и Южная Азия) выявил две отличительные группы на двух противоположных концах этого региона: формы с крупными семенами на Западе и мелкосеменные формы, сосредоточенные в Юго-Западной Азии, Индии, Афганистане, Бухаре и Кашмире. Восточная группа, обладающая большей территорией, более древняя, восходит к неолитической культуре, с наибольшим количеством эндемических форм и разнообразием признаков вида, имеющих много специфических черт, отсутствующих в западной группе (Muratova, 1931).

Современные исследования посредством молекулярных маркеров подтвердили, что популяции бобов из Индии, Пакистана и частично Афганистана генетически близки друг к другу и обособляются от образцов из Европы, Западного Средиземноморья и Ближнего Востока (Potokina et al., 2008).

В 1937 г. В. С. Муратовой опубликована эколого-географическая классификация бобов. Все разнообразие вида разбито на 17 эколого-географических групп, из которых 15 объединяют собственно бобы (индийская, кашмирская, белуджистанская, памиро-бадахшанская, иранская, горная дагестанская, сванетская, египетская, средиземноморская, южноевропейская, западноевропейская, среднеевропейская, бореальная, японо-китайская, абиссинская), а две относятся к предполагаемым ближайшим родичам *V. narbonensis* L. (сирийская) и *V. pliniana* (Trab.) Muratova (горно-африканская) (Muratova, 1937).

По направлениям использования различают бобы кормовые и овощные.

Большая часть коллекции представляет собой образцы кормового назначения. На корм скоту используются как семена, так и вегетативная масса. Кормовые бобы мелкосемянные, принадлежат к разновидностям *minor* и *equina*. Зеленая масса отличается высокой питательной ценностью – в ней содержится сырого протеина в 1,5–2 раза больше, чем в зеленой массе кукурузы (13,8–21,5%). Белок бобов конских, как и большинства бобовых, дефицитен по содержанию незаменимых аминокислот метионина и цистеина, что необходимо учитывать при составлении рациона животных с участием бобов. На силос бобы выращивают в смешанных посевах со злаковыми культурами (просо, овес, суданская трава, кукуруза), которые содержат эти аминокислоты в достаточном количестве (Jenson, 1962).

Установлено, что наблюдается дифференциация в пользе кормов из бобов, так же как и в допустимых количествах антипитательных веществ, для разных видов домашних животных. К примеру, присутствие вицина и конвицина влияет на метаболизм кур-несушек, но оказывает ограниченное влияние на цыплят-бройлеров, свиней или жвачных животных. Это необходимо учитывать как в селекции, так и при скармливании кормов из бобов разным группам животных (Crépon, 2010; Duc et al., 2011).

Овощные сорта бобов собирают, когда семена достигают молочной спелости. Их используют в домашней кулинарии и для консервирования. Они отличаются крупными плоскими семенами, их сорта относятся к разновидности *major*. Среди овощных культур бобы лидируют по содержанию белка и незаменимых аминокислот, богаты витаминами, углеводами, органическими кислотами, биологически активными соединениями и микроэлементами. Это продукт функционального питания. Семена бобов могут употребляться в свежем и переработанном виде, и сохраняются в заморозке (Pronina et al., 2019).

В настоящее время в коллекции ВИР насчитывается около 400 образцов овощных бобов. Основные признаки, по которым ведется селекция овощных бобов в Российской Федерации: скороспелость, высокая семенная продуктивность, качество семян по биохимическим показателям, вкусовые качества, нерастрескиваемость бобов при созревании (Vishnyakova et al., 2013).

Считается, что только белоцветковые сорта пригодны для консервирования. Белые цветки обычно указывают на отсутствие в семенах флавоноида лейкоантоцианидина, который вызывает изменение окраски семян после обработки. По этому признаку сорта для консервирования также делятся на две группы: сорта, которые после стерилизации консервов становятся коричневыми и сохраняют типичный для бобов горький привкус, и сорта, сохраняющие светлую и зеленую окраску и утрачивающие горечь (Dyomina, 1979).

В 1960-х гг. к сортам, используемым в консервировании, стали предъявлять обязательные требования – белосемянность, так как сорта с окрашенными семенами вызывали помутнение заливной жидкости (Budanova, 1979), поэтому большинство овощных сортов бобов в наши дни обладают светлосемянностью. Альтернативой сорту ‘Русские черные’ стал созданный недавно сорт овощных бобов ‘Русские белые’ в ФГНБУ «Федеральный научный центр овощеводства» (ФНЦО) (Pronina et al., 2019). Так как белоцветковость контролируется только одним геном, то ее легко передать от сорта к сорту (Dyomina, 1979).

Биологические и агрономические характеристики бобов

Бобы – факультативный самоопылитель. Изменчивость признака автофертильности может быть очень высокой: от полной автогамии, когда пыльники раскрываются обычно еще до распускания цветка (бутонная автогамия), до 56,2–62,7% перекрестного опыления (Semenova, 1987). По данным для кормовых бобов степень перекрестного опыления в Нечерноземной зоне РФ составляет 15,0–32,0% (Dyomina, 1976; Sidorova, 1979). В связи с этим размножать коллекционные образцы следует на изолированных участках или под изоляторами и проводить тщательную сортовую прочистку. При селекционно-семеноводческой работе с бобами необходима пространственная изоляция, ограничивающая межсортовое перекрестное опыление.

Выяснено, что в условиях Ленинградской области цветение продолжается до 70 дней. Некоторые образцы в течение всего вегетационного периода образуют пасынковые прикорневые побеги и продолжают цвести (в зависимости от погодных условий) (Dyomina, 1973). Авторы данной статьи отмечали такие цветки на прикорневых пасынках, едва возвышающихся над почвой при уборке бобов в начале сентября.

Цветок бобов раскрывается во второй половине дня, и наибольшее количество раскрывшихся цветков можно наблюдать к 16–18 часам, когда прекращается лет большинства опылителей.

Корень стержневой, сильно ветвящийся в верхнем слое почвы на мелкие корешки. Главный корень проникает в почву на глубину 120–170 см. За счет такой длины он способен выносить фосфор из глубоких горизонтов почвы, что наряду с азотфиксирующей способностью бобов повышает ее плодородие (Kovalev, Dozortsev, 1963).

Стебель прочный, преимущественно прямой, или полегающий во время появления бобов, ветвящийся только у основания, голый или опушенный, четырехгранный, высотой от 10 до 150 см и выше.

Длина плодов (бобов) варьирует от 4 до 35 см.

Окраска семян – хороший диагностический признак для систематики. Семена бобов, как и других зернобобовых культур, варьируют по окраске от серовато-белых до черных с переходами через кремовые, желтые, розовые, зеленые, серые, фиолетовые, коричневые (Muratova, 1931).

Бобы – растения длинного дня. Они малотребовательны к теплу, холодостойкие. Всходы переносят заморозки до –4, –6°C. Наиболее благоприятная температура для роста и развития бобов +19, +20°C. Культура влаголюбивая, но способная произрастать на неорошаемых землях (Kovalev, Dozortsev, 1963).

Древность культуры и разнообразие условий возделывания привели к большой амплитуде изменчивости продолжительности вегетационного периода. Разница во времени созревания скороспелых и позднеспелых образцов достигает почти месяц. По описаниям сортов в Государственном реестре вегетационный период измеряется 91–120 днями (State register…, 2019). Скороспелые сорта бобов относятся к бореальной, дагестанской, сванетской, египетской, эфиопской эколого-географическим группам, среднеспелые – к южноевропейской, позднеспелые – к западноевропейской, среднеевропейской и средиземноморской. У бобов, как и других зернобобовых культур, существует прямая положительная корреляция между продолжительностью межфазного периода «всходы – цветение» и полного вегетационного периода. Основными факторами, влияющими на продолжительность вегетационного периода, являются температурные условия, при равных температурах – сумма осадков (Dyomina, 1973).

В бобе в среднем от 0,8 до 6,1 семян. Масса 1000 семян у разных образцов колеблется от 60 до 2400 г. Этот признак в определенной степени зависит от почвенно-климатических факторов. Семенная продуктивность одного растения может достигать 127 г (Zong et al., 2006).

Антипитательные вещества вицин и конвицин, содержащиеся в семядолях сырых бобов, в организме образуют свободные радикалы, провоцирующие гемолиз эритроцитов, что вызывают у человека опасное заболевание фавизм (от латинского *faba*) (Crépon et al., 2010). При наличии в генотипе растения рецессивных аллелей гена *vc*, определяющих низкое содержание этих веществ, их количество уменьшается в 10–20 раз (Khazaei et al., 2017). Второй класс антипитательных веществ семян бобов – танины – содержатся в семенной оболочке: от 6 до 10 г/кг сухого веса (Duc et al., 1989). Известна взаимосвязь между белоцветковостью (отсутствием пигментации на лепестках) и отсутствием танина в семенах (Duc et al., 1989). Этот морфологический маркер способствует выявлению образцов с отсутствием танина прямо в поле без биохимических исследований (рис. 3, а, б).

Современное состояние селекции бобов в РФ и роль в ней коллекции ВИР

Ежегодно из ВИР в различные селекционные учреждения рассылаются образцы, представляющие интерес как источники ценных хозяйственных признаков.

Первый селекционный сорт бобов, созданный в России, – ‘Русские черные’. Сорт был включен в Государственный реестр селекционных достижений и допущен к возделыванию во всех регионах страны с 1943 г. Оригинатор сорта – ВНИИССОК (в наши дни – ФНЦО). Этот высокопродуктивный овощной сорт с темно-фиолетовыми семенами долгие годы был стандартом в системе сортоиспытаний.

Однако в селекции отечественных сортов бобов был многолетний простой. На полях страны производили в основном зарубежные сорта, ряд из которых служили стандартами на госсортоучастках: ‘Херц Фрея’, ‘Широкко’, ‘Troy’ (Германия), ‘Микко’, ‘Укко’ (Финляндия), ‘Аушра’ (Литва), ‘Aria’ (Швеция), ‘Альфред’ (Нидерланды) и др.

В настоящее время селекцией бобов в РФ занимается несколько государственных селекционных учреа)   б)

Рис. 3. Обычный фенотип с пигментированными лепестками (а). Сорт ‘Toret’ (к-2286, Чехословакия) с белыми цветками без пигментации (б) (фото авторов)

Fig. 3. Conventional phenotype with pigmented petals (a). Cv. ‘Toret’ (k-2286, Czechoslovakia) with white flowers without pigmentation (b) (photos by the authors)

ждений: ФНЦО (Московская обл.), ФГБНУ «Федеральный научный центр зернобобовых и крупяных культур» (ФНЦЗБК) (г. Орел), Тульский НИИСХ – ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Немчиновка» (Московская обл.), ВИР (г. Санкт-Петербург), а также частные компании. В результате их деятельности созданы и районированы 16 сортов овощных и 12 кормовых из общего числа регистрировавшихся в Государственном реестре. Два районированных сорта – зарубежной селекции (State register…, 2019). Все сорта рекомендованы к производству во всех районах РФ.

ВИР внес значимый вклад в селекцию бобов. В 1999 г. в Государственный реестр был включен сорт овощных бобов ‘Вировские’, созданный в институте совместно с ЗАО «Русские семена» и ООО «Евро-семена». Крупные семена этого сорта имеют светлую оболочку, что предпочтительно как для перерабатывающей промышленности, так и для кулинарии.

В результате сотрудничества с Тульским НИИСХ и многолетней оценки генофонда по ряду ценных селекционных признаков путем многократного массового отбора белоцветковых растений из образца и-579969 – ‘Express’ (Франция) – была выделена линия овощных бобов ЛБ-69. В течение восьми лет (2006–2013 гг.) в условиях Ленинградской и Тульской областей линия выделялась по признакам высокой семенной продуктивности, скороспелости и нерастрескиваемости бобов. В засушливом 2010 г. ее урожайность в условиях Тульской области оказалась самой высокой среди 25 изучавшихся коллекционных образцов различного географического происхождения. В 2013 г. линия ЛБ-69 была внесена в Государственный реестр селекционных достижений РФ под названием ‘Анна’ селекции ВИР и Тульского НИИСХ. Сорт также светлосемянный, отличается высокими вкусовыми качествами, отсутствием или пониженным содержанием вицина и конвицина (Bulyntsev, Telikh, 2015).

Изучение мирового генофонда позволило разработать морфологические и биологические параметры модельного сорта кормовых бобов для использования его в производстве. В результате многолетнего полевого изучения в условиях Ленинградской области (г. Пушкин) из образцов к-2112 ‘Top-less’ и к-2239 ‘VF 1 8096’ (Германия) методом многократного отбора выделены линии кормовых бобов с ценными селекционными признаками, детерминантным типом роста стебля. В результате совместно с Тульским НИИСХ был создан сорт кормовых бобов ‘Дружные’, включенный в государственное сортоиспытание в 2012 г. (Bulyntsev, Telikh, 2010). Уникальность сорта – в одновременном созревании бобов, что позволяет проводить уборку на зерно прямым комбайнированием (рис. 4). Сорт отличается

Рис. 4. Сорт кормовых бобов ‘Дружные’ (к-2579, Россия) (фото С. В. Булынцева)

Fig. 4. Broad bean cultivar ‘Druzhnye’ (k-2579, Russia) (photo by S. V. Bulyntsev)

относительной засухоустойчивостью, рекомендуется для использования на семена и как поддерживающая культура в смешанных посевах с викой и горохом (Telikh, Bulyntsev, 2017).

Дальнейшее сотрудничество с Тульским НИИСХ привело к созданию в 2016 г. нового сорта бобов пищевого и кормового использования ‘Находка’. Сорт получен методом индивидуального отбора с последующим многократным массовым отбором из коллекционного образца к-2271 (Бельгия). Наряду с целым рядом агрономических достоинств сорт обладает очень хорошими вкусовыми качествами, отсутствием антипитательных веществ в семенах, пригоден для консервирования (Telikh, Bulyntsev, 2016, 2017).

Подытоживая обзор селекции бобов в нашей стране, нужно подчеркнуть, что разнообразие, сохраняемое в коллекции ВИР, предоставляет неограниченные возможности для выявления потенциала продуктивности, адаптивности и расширения агрономического ареала культуры бобов.

Заключение

Коллекция бобов ВИР, имеющая более чем столетнюю историю, содержит образцы из всех производящих эту культуру стран мира, а также местные сорта, привезенные из многочисленных экспедиций, в том числе из центров происхождения культуры. Коллекция включает все эколого-географическое разнообразие вида *Vicia faba* L. Она служит источником исходного материала для создания сортов кормового и овощного направлений использования, отвечающих современным потребительским требованиям. В коллекции имеются ценные формы – источники селекционно значимых признаков, обладающие высоким качеством семян – без антипитательных веществ, а также современные технологичные морфотипы с детерминантным типом роста и одновременным созреванием бобов. Ограниченные производственные площади бобов в нашей стране и скромные масштабы селекции служат побудительными мотивами для дальнейшей мобилизации современных мировых достижений селекции в коллекцию ВИР, а также интенсивного изучения генофонда бобов для более широкого и конструктивного взаимодействия с селекционными учреждениями и популяризации этой ценной культуры.

Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0662-2019-0002 «Научное обеспечение эффективного использования мирового генофонда зернобобовых культур и их диких родичей коллекции ВИР».

This study was implemented within the framework of the State Task in accordance with the theme plan of VIR, Project No. 0662-2019-0002 “Scientific support for effective utilization of the global genetic diversity of grain legume crops and their wild relatives from the VIR collection”.

References/Литература

Biddle A.J. Peas and beans. CAB International; 2017. DOI: 10.1079/9781780640914.0000

Budanova V.I. The source material for the breeding of vegetable bean (Iskhodny material dlya selektsii ovoshchnoy fasoli). *Trudy po selektsii ovoshchnykh kultur = Proceedings on Vegetable Crop Breeding*. 1979;(9):64-66. [in Russian] (Буданова В.И. Исходный материал для селекции овощной фасоли. *Труды по селекции овощных культур*. 1979;(9):64-66).

Bulyntsev S.V., Telikh K.M. Global collection of VIR. Accessions of fodder beans promising for cultivation in Tula Province (Mirovaya kollektsiya VIR. Obraztsy kormovykh bobov, perspektivnye dlya vozdelyvaniya v Tulskoy oblasti). *Fodder Production.* 2010;(6):29-31. [in Russian] (Булынцев С.В., Телих К.М. Мировая коллекция ВИР. Образцы кормовых бобов, перспективные для возделывания в Тульской области. *Кормопроизводство.* 2010;(6):29-31).

Bulyntsev S.V., Telikh K.M. Faba beans breeding in the Tula region. *Fodder Production*. 2015;(11):37-39. [in Russian] (Булынцев С.В., Телих К.М. Селекция овощных бобов в Тульской области. *Кормопроизводство*. 2015;(11):37-39).

Crépon K., Marget P., Peyronnet C., Carrouée B., Arese P., Duc G. Nutritional value of faba bean (*Vicia faba* L.) seeds for feed and food. *Field Crops Research.* 2010;115(3):329-339. DOI: 10.1016/j.fcr.2009.09.016

Cubero J.I. Interspecific hybridization in *Vicia.* In: *Faba bean improvement*. The Hague, Netherlands: Martines Nijhoff Publishers; 1982. p.91-108.

Duc G., Link W., Marget P. Genetic adjustment to changing climates: Faba bean in crop adaptation to climate change. In: *Crop adaptation to climate change*. Oxford, UK: Wiley–Blackwell; 2011. p.269-286.

Duc G., Sixdenier G., Lila M. Search of genetic variability for vicine and convicine content in *Vicia faba* L. A first report of a gene which codes for nearly zero-vicine and zero convicine contents. In: *Recent advances of research in antinutritional factors in legumes seeds*. Netherlands; Pudoc; 1989. p.305-313.

Dyomina R.B. The source material for the breeding of vegetable beans (Iskhodny material dlya selektsii ovoshchnykh bobov). *Trudy po selektsii ovoshchnykh kultur = Proceedings on Vegetable Crop Breeding*. 1979;(9):66-69. [in Russian] (Демина Р.Б. Исходный материал для селекции овощных бобов. *Труды по селекции овощных культур*. 1979;(9):66-69).

Dyomina R.B. The variability of the growing season in beans (*Faba bona* Medic). *Bulletin of Applied Botany, Genetics and Plant Breeding*. 1973;51(1):57-66. [in Russian] (Демина Р.Б. Изменчивость вегетационного периода у бобов (*Faba bona* Medic). *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 1973; 51(1):57-66).

Dyomina R.B. To the history of taxonomy *Faba bona* Medic. *Bulletin of Applied Botany, Genetics and Plant Breeding*. 1976;57(3):72-81. [in Russian] (Демина Р.Б. К истории систематики *Faba bona* Medic. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 1976;57(3):72-81).

Ellwood S.R., Phan H.T.T., Jordan M., Hane J., Torres A.M., Avila C.M. et al. Construction of a comparative genetic map in faba bean (*Vicia faba* L.); conservation of genome structure with *Lens culinaris*. *BMC Genomics*. 2008;9:380. DOI: 10.1186/1471-2164-9-380

FAOSTAT 2018. Available from: http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC (accessed on August 9, 2019).

Hanelt P., Mettin D. Biosystematic of the genus *Vicia* L. (Leguminosae). *Annual Review of Ecology and Systematics*. 1989;20:199-223.

Jaaska V. Isoenzyme diversity and phylogenetic affinities in *Vicia* subgenus *Vicia* (*Fabaceae*). *Genetic*

Resources and Crop Evolution. 1997;44:557-574. DOI: 10.1023/A:1008630003045

Jenson A. Fodder bean – a valuable fodder crop. In: N.A. Maysuryan (ed.). *Fodder beans abroad. Collection of translations*. Moscow: Selkhozizdat; 1962. p.9-13. [in Russian] (Енсон А. Кормовые бобы – ценная кормовая культура. В кн.: Кормовые бобы за рубежом: Сборник переводов / под ред. Н.А. Майсуряна. Москва: Сельхозиздат; 1962. С.9-13).

Khazaei H., Purves R.W., Song M., Stonehouse R., Bett K.E., Stoddard F.L. et al. Development and validation of a robust, breeder-friendly molecular marker for the *vc* locus in faba bean. *Molecular Breeding*. 2017;37(11):140. DOI: 10.1007/s11032-017-0742-5

Kosterin O.E. The lost ancestor of the broad bean (*Vicia faba* L.) and the origin of plant cultivation in the Near East. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2014;18:831-840. DOI: 10.18699/VJ15.118

Kovalev V.N., Dozortsev L.A. A methodological guide for breeding and seed production of fodder beans in the BSSR (source material for breeding) (Metodicheskoye rukovodstvo po selektsii i semenovodstvu kormovykh bobov v usloviyakh BSSR [iskhodny material dlya selektsii]). Gorki; 1963. [in Russian] (Ковалев В.Н., Дозорцев Л.А. Методическое руководство по селекции и семеноводству кормовых бобов в условиях БССР (исходный материал для селекции). Горки; 1963).

Kupicha F.K. The infrageneric structure of Vicia. *Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh*. 1976;34:131-162.

Maxted N. A phenetic investigation of *Vicia* L. subgenus *Vicia* (Leguminosae, Vicieae). *Botanical Journal of the Linnaean Society*. 1993;111(2):155-182. DOI: 10.1111/j.1095-8339.1993.tb01897.x

Muratova V.S., Common beans (*Vicia faba* L.). *Bulletin of Applied Botany, of Genetics and Plant Breeding*. 1931; Suppl 50:248-298. [in Russian] (Муратова В.С. Бобы (*Vicia faba* L.). *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 1931; Приложение 50:248-298).

Muratova V.S. *Vicia* L. In: *Cultivated Flora of the USSR. Vol. IV. Grain Legumes* (*Kulturnaya flora SSSR. T. IV. Zernovye bobovye*). Moscow ; Leningrad: VIR; 1937. p.79-122. [in Russian] (Муратова В.С. *Vicia* L. В кн.: *Культурная флора СССР. Т. IV. Зерновые бобовые*. Москва; Ленинград: ВИР; 1937. С.79-122).

Potokina E.K., Bulyntsev S.V., Tomooka N., Vogan D. To the question about origin of cultivated bean and intraspecific variability in *Vicia faba* L. according to the results of molecular marking of genome. *Agricultural Biology*. 2008;43(3):48-57. [in Russian] (Потокина Е.К., Булынцев С.В., Томоока Н., Воган Д. К вопросу о происхождении возделываемых бобов и внутривидовом разнообразии *Vicia faba* L. по результатам молекулярного маркирования генома. *Сельскохозяйственная биология*. 2008;43(3):48-57).

Pronina E.P., Ushakov V.A., Kotlyar I.P., Soldatenko A.V. Russkie belye is a new heavyproductive promising variety of vegetable beans (*Vicia faba* L.). *Vegetable Crops of Russia*. 2019;(6):50-52. [in Russian] (Пронина Е.П., Ушаков В.А., Котляр И.П., Солдатенко А.В. Русские белые – новый урожайный перспективный сорт бобов овощных (*Vicia faba* L.). *Овощи России*. 2019;(6):50-52). DOI: 10.18619/2072-9146-2019-6-50-52

Ramsay G., Pickersgill B., Jones J.K., Hammond L., Stewart M.H. Barriers to interspecific hybridization between *Vicia faba* and other species of section Faba. In: P.D. Hebblethwaite, T.C.K. Dawkins, M.C. Heath, G. Lockwood (eds). *World Crops: Production, Utilization, Description. Vol. 10. Vicia faba: Agronomy, Physiology and Breeding.* Dordrecht, the Netherlands; 1984. DOI: 10.1007/978-94-017-3647-3_22

Semenova E.V. Mode of pollination and seed productivity of fodder beans. *Scientific and Technical Bulletin of the N.I. Vavilov All-Russian Research Institute of Plant Industry.* 1987:170:26-30. [in Russian] (Семенова Е.В. Способ опыления и семенная продуктивность кормовых бобов. *Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института растениеводства им. Н.И. Вавилова.* 1987;170:26-30).

Sidorova V.F. Biology of pollination of fodder beans in the south of the Non-Chernozem zone (Biologiya opyleniya kormovykh bobov v usloviyakh yuga Nechernozemnoy zony). *Byulleten nauchno-tekhnicheskoy informatsii VNII zernobobovykh i krupyanykh kultur = Bulletin of Scientific and Technical Information of the All-Union Research Institute of Legume and Groat Crops.* 1979;25:22-26. [in Russian] (Сидорова В.Ф. Биология опыления кормовых бобов в условиях юга Нечерноземной зоны. *Бюллетень научно-технической информации ВНИИ зернобобовых и крупяных культур*. 1979;25:22-26).

State Register for Selection Achievements Admitted for Usage (National List). Vol. 1 “Plant varieties” (official publication). Moscow; 2019. [in Russian]. (Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Том 1. «Сорта растений» (официальное издание). Москва; 2019).

Tanfilyev G.I. Essay on the geography and history of major cultivated plants (Ocherk geografii i istorii glavneyshikh kulturnykh rasteniy). Odessa: State Publishing House of Ukraine; 1923. [in Russian] (Танфильев Г.И. Очерк географии и истории главнейших культурных растений. Одесса: Государственное издательство Украины; 1923).

Tanno K., Willcox G. The origins of cultivation of *Cicer arietinum* L. and *Vicia faba* L.: Early finds from Tell el-Kerkh, north-west Syria, late 10th millennium B.P. *Vegetation History and Archaeobotany*. 2006;15(3):197-204. DOI: 10.1007/s00334-005-0027-5

Telikh K.M, Bulyntsev S.V. The experience of growing new varieties of vegetable beans on chernozem soils of Tula Province (Opyt vyrashchivaniya novykh sortov ovoshcnykh bobov na chernozemnykh pochvakh Tulskoy oblasti). *Nauchny obozrevatel = Science Observer*. 2016;10(70):56-58. [in Russian] (Телих К.М., Булынцев С.В. Опыт выращивания новых сортов овощных бобов на черноземных почвах Тульской области. *Научный обозреватель*. 2016;10(70):56-58).

Telikh K.M., Bulyntsev S.V. The influence of agrotechnical methods of cultivation on productivity of new vegetable and fodder beans’ varieties. *Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences*. 2017;8(68):270-275. [in Russian] (Телих К. М., Булынцев С. В. Влияние агротехнических приемов возделывания на продуктивность новых сортов овощных и кормовых бобов. *Российский журнал сельскохозяйственных и социально-экономических наук.* 2017;8(68):270-275). DOI: 10.18551/rjoas.2017-08.31

Vavilov N.I. Five continents. Leningrad: Nauka; 1987. [in Russian] (Вавилов Н.И. Пять континентов. Ленинград: Наука; 1987).

Vishnyakova M.A. The role of N.I. Vavilov in the creation of VIR grain legumes genetic resources collection. *Agricultural Biology*. 2012;5:31-38 [in Russian] (Вишнякова М.А. Роль Н. И. Вавилова в создании коллекции генетических ресурсов зернобобовых культур. *Сельскохозяйственная биология*. 2012;5:31-38).

Vishnyakova M.A., Aleksandrova T.G., Buravtseva T.V., Bulyntsev S.V., Burlyaeva M.O., Egorova G.P., Semenova E.V., Seferova I.V., Yankov I.I. Strategy and tactics of grain legumes genetic resources mobilization in VIR collection at the turn of XX–XXI centuries. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2012;169:41-52. [in Russian] (Вишнякова М.А., Александрова Т.Г., Буравцева Т.В., Булынцев С.В., Бурляева М.О., Егорова Г.П., Семенова Е.В., Сеферова И.В., Яньков И.И. Стратегия и тактика мобилизации генетических ресурсов зернобобовых в коллекцию ВИР на рубеже XX–XXI веков. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2012;169:41-52).

Vishnyakova M.A, Bulyntsev S.V, Burlyaeva M.O., Buravtseva T.V, Egorova G.P, Semenova E.V, Seferova I.V. The initial material for grain legumes breeding in the collection of VIR. *Vegetable Crops of Russia*. 2013;(1):16-25. [in Russian] (Вишнякова М.А., Булынцев С.В., Бурляева М.О., Буравцева Т.В., Егорова Г.П., Семенова Е.В., Сеферова И.В. Исходный материал для селекции овощных бобовых культур в коллекции ВИР. *Овощи России*. 2013;(1):16-25). DOI: 10.18619/2072-9146-2013-1-16-25

Vishnyakova M.A., Seferova I.V., Buravtseva T.V., Burlyaeva M.O., Semenova E.V., Filipenko G.I., Aleksandrova T.G., Egorova G.P., Yankov I.I., Bulyntsev S.V., Gerasimova T.V., Drugova E.V. VIR global collection of grain legume crop genetic resources: replenishment, conservation and studying: (methodological guidelines). 2nd ed. M.A. Vishnyakova (ed.). St. Petersburg: VIR; 2018. [in Russian] (Вишнякова М.А., Сеферова И.В., Буравцева Т.В, Бурляева М.О., Семенова Е.В., Филипенко Г.И., Александрова Т.Г., Егорова Г.П., Яньков И.И., Булынцев С.В., Герасимова Т.В., Другова Е.В. Коллекция мировых генетических ресурсов зерновых бобовых ВИР: пополнение, сохранение и изучение: (методические указания). 2-е изд. / под ред. М.А. Вишняковой. Санкт-Петербург: ВИР; 2018). DOI: 10.30901/978-5-905954-79-5

Vishnyakova M.A., Yankov I.I. Valentina Semenovna Muratova. In: *Nikolai Ivanovich Vavilov's associates: Plant genetic diversity researchers (Anniversary edition).* N.I. Dzyubenko, E.I. Gaevskaya, M.A. Vishnyakova, I.G. Loskutov, S.N. Kutuzova, L.Y. Shipilina, I.V. Kotelkina, E.A. Sokolova (eds). St. Petersburg: VIR; 2017. p.370-373. [in Russian] (Вишнякова М.А., Яньков И.И. Муратова Валентина Семеновна. В кн.: *Соратники Николая Ивановича Вавилова: исследователи генофонда растений (юбилейное издание)* / под ред. Н.И. Дзюбенко, Е.И. Гаевской, М.А. Вишняковой, И.Г. Лоскутова, С.Н. Кутузовой, Л.Ю. Шипилиной, И.В. Котёлкиной, Е.А. Соколовой. Санкт-Петербург: ВИР; 2017. С.370-373).

Zong X., Cheng X., Wang S. Food legume crops. In*: Crops and its relative species in China – Grain crops*. Beijing; 2006. p. 406–479.

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

Мамедова С.М., Вишнякова М.А. Генетическое разнообразие коллекции бобов (*Vicia faba*) ВИР и его использование в селекции. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(3):181-189. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-181-189

Mamedova S.M., Vishnyakova M.A. Genetic diversity of broad beans (*Vicia faba*) in the collection of the Vavilov Institute and its use in breeding. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(3):181-189. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-181-189

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/10.30901/2227-8834-2020-3-181-189

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
Mamedova S.M. https://orcid.org/0000-0003-2238-4714
Vishnyakova M.A. https://orcid.org/0000-0003-2808-7745

Состав коллекции примитивных культурных видов секции *Petota* Dumort. рода *Solanum* L. и актуальные направления их исследования

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-190-202

УДК 633.491+57.063
Поступление/Received: 06.02.2020
Принято/Accepted: 21.09.2020

Е. В. РОГОЗИНА, А. А. ГУРИНА

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

Composition of the collection of primitive cultivated species within the *Solanum* L. section *Petota* Dumort. and contemporary trends in their research

E. V. ROGOZINA, A. A. GURINA

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

Сохраняемая в ВИР коллекция генетических ресурсов картофеля является одним из первых в мире собраний образцов примитивных культурных видов – аборигенных сортов картофеля, возделываемых индейским населением стран Южной Америки. Самые старые образцы поступили в коллекцию в 1927 г. Примерно одна пятая часть коллекции (106 образцов из 573) является уникальным материалом, собранным в ходе экспедиций ВИР в Боливии, Колумбии, Эквадоре и Перу. Обнаруженное экспедициями ВИР разнообразие возделываемых высокогорных картофелей, согласно системе С. М. Букасова, относится к видам *Solanum ajanhuiri* Juz. et Buk., *S. × chaucha* Juz. et Buk., *S. mammilliferum* Juz. et Buk., *S. phureja* Juz. et Buk., *S. rybinii* Juz. et Buk., *S. goniocalyx* Juz. et Buk., *S. stenotomum* Juz. et Buk., *S. tenuifilamentum* Juz. et Buk., *S. × juzepczukii* Buk. и *S. × curtilobum* Juz. et Buk. В этой группе выделяют виды *S. × ajanhuiri*, *S. phureja*, *S. stenotomum*, которые по своим признакам наиболее близки ранним доместицированным формам клубнеобразующих видов рода *Solanum* L. В статье представлен аналитический обзор современного состава коллекции примитивных культурных видов картофеля и результатов их изучения за предшествующий период. Приведены эколого-географические характеристики мест возделывания культурных родичей картофеля, сведения об источниках поступления образцов в коллекцию ВИР. Масштабная оценка образцов примитивных культурных видов картофеля по комплексу признаков, проведенная в полевых и лабораторных опытах, отражает селекционный потенциал и является первичной информацией для проведения более углубленных исследований. Обсуждается значимость изучения *S. phureja* и близкородственных культурных видов для разработки фундаментальных проблем биологии растений. Накопленный объем данных позволяет сегодня осуществить точечный выбор образцов наиболее перспективных для молекулярно-генетического изучения разнообразия генофонда видов картофеля.

Ключевые слова: картофель, близкородственные виды, *ex situ*, клубнеобразование, период покоя клубней, ДНК-анализ, гены хозяйственно ценных признаков.

The diversity of potato genetic resources in the VIR genebank harbors one of the world's first collections of primitive cultivated species. These accessions are native potato varieties cultivated by the indigenous population of South America. The oldest accessions in the collection are traced back to 1927. Approximately one fifth of the collection (106 accessions out of 573) is the unique material procured by VIR's collecting missions to Bolivia, Colombia, Ecuador, and Peru. According to S. Bukasov's potato classification, the diversity of South American highland potatoes explored by VIR's collectors belongs to spp. *Solanum ajanhuiri* Juz. et Buk., *S. × chaucha* Juz. et Buk., *S. mammilliferum* Juz. et Buk., *S. phureja* Juz. et Buk., *S. rybinii* Juz. et Buk., *S. goniocalyx* Juz. et Buk., *S. stenotomum* Juz. et Buk., *S. tenuifilamentum* Juz. et Buk., *S.× juzepczukii* Buk., and *S. × curtilobum* Juz. et Buk. Within this group of species, *S. × ajanhuiri*, *S. phureja* and *S. stenostomum* are the closest in their characteristics to ancient domesticated forms of tuber-bearing *Solanum* spp. This publication is an analytical review of the current composition of the primitive cultivated potato species collection and the results of its earlier studies. Ecogeographic descriptions of the sites native for cultivated potatoes and information on the sources of the accessions are presented. A large-scale evaluation of primitive cultivated potato accessions by a set of characters, carried out in field and laboratory experiments, uncovers their breeding potential and serves as the primary information platform for further in-depth research. Studying *S. phureja* and closely related cultivated potato species is important for finding solutions of fundamental problems in plant biology. The data arrays accumulated today would facilitate targeted selection among accessions to identify most promising ones for molecular genetic studies into the gene pool diversity of potato species.

Key words: potato, relative species, *ex situ*, tuberization, dormancy, DNA analysis, genes of valuable agronomic traits.

Введение

Создание коллекций культурных растений и их дикорастущих родичей было начато около ста лет тому назад благодаря научной и организационной деятельности выдающегося российского ученого Н. И. Вавилова. Его гениальное предвидение необходимости сбора, сохранения и изучения растительного разнообразия реализовано мировым сообществом в создании генных банков (коллекций *ex situ*). В современном мире существуют 1625 генных банков, которые сохраняют растительный генофонд для использования в селекции возделываемых культур, исследовательских и образовательных программах (FAO, 2010). Основными проблемами мировых коллекций сельскохозяйственных растений и диких родичей сегодня являются: правильная идентификация и выявление дублетных образцов, недостаточная изученность большей части коллекций, ограниченное использование генофонда в практической селекции (FAO, 2010). Даже крупные международные центры не располагают исчерпывающей информацией о сохраняемом растительном материале. Например, в Международном центре картофеля (CIP), коллекция которого насчитывает более 5800 образцов картофеля и родственных видов, данные дескрипторов наиболее полно описывают морфологию растений, тогда как характеристика по другим признакам сделана для разного числа – от 2 до 5000 образцов (Anglin et al., 2018).

Последние десятилетия XX и начало XXI века отмечены бурным развитием молекулярной биологии, информационных технологий, биоинформатики. Новые научные направления – геномика, протеомика, метаболомика – обеспечили колоссальный прогресс во многих отраслях человеческой деятельности, в том числе в генетике и селекции растений. Достижения молекулярной генетики и геномные технологии могут быть реальным катализатором эффективной работы по сохранению, изучению и использованию растительного разнообразия, собранного в генных банках (Wambugu et al., 2018).

В составе коллекции генетических ресурсов растений ВИР сохраняется одно из крупнейших в мире собраний картофеля и родственных видов – представителей секции *Petota* Dumort. рода *Solanum* L. (FAO, 2010). Сохраняемый генофонд представляют более 8000 образцов, в том числе 2700 селекционных сортов, 2000 образцов диких видов, 3200 образцов культурных видов и около 800 клонов межвидовых гибридов картофеля (Kiru, Rogozina, 2017). Формирование коллекции картофеля ВИР было начато сто лет назад С. М. Букасовым, который в 1919–1920 гг. по заданию Н. И. Вавилова приступил к сбору отечественных и интродукции зарубежных сортов картофеля. Экспедиции Института растениеводства по сбору мировых сортовых растительных ресурсов в горных районах Центральной и Южной Америки обнаружили «…десятки новых, неизвестных науке, культурных и близких к ним диких видов картофеля, используемых индейскими племенами» (Vavilov, 1935, p. 58). На протяжении XX столетия коллекция ВИР пополнялась новыми образцами, изучение биологических особенностей которых способствовало развитию знаний о разнообразии генетических ресурсов картофеля и родственных видов, решению задач практической селекции.

Картофелеводство относится к числу ведущих отраслей мирового и российского агропроизводства. Основным фактором, обеспечивающим его устойчивое и стабильное функционирование, являются высокоурожайные, устойчивые к болезням и вредителям сорта, качество продукции которых соответствует требованиям потребителей. Методы маркер-ориентированной и геномной селекции ускоряют процессы селекции картофеля, но для их эффективного применения необходимы фундаментальные исследования в области геномики и транскриптомики образцов культивируемого картофеля и его дикорастущих сородичей, выявление целевых генов и их аллельного разнообразия (Khlestkina et al., 2016; Bykova et al., 2017).

Международный консорциум, организованный для секвенирования генома картофеля, опубликовал в 2011 г. последовательность удвоенного моноплоида *S. phureja* DM1-3 516R44 (Xu et al., 2011). Этот референсный геном служит основой для изучения различий в геномах других диплоидных форм – селекционных линий и диких родичей картофеля, выявления полиморфизма у тетраплоидных сортов и гибридов. Секвенирование геномов диких видов *S. commersonii* Dun. (Aversano et al., 2015), *S. chacoense* Bitt. (Leisner et al., 2018), развитие технологий целевого секвенирования дали импульс масштабному изучению геномных последовательностей растений секции *Petota* рода *Solanum* (Hardigan et al., 2017; Li et al., 2018).

Сохраняемая в ВИР коллекция генетических ресурсов картофеля представляет особый интерес для исследования, поскольку является одним из старейших в мире собраний образцов культурных видов. Воспроизводство коллекционных образцов на протяжении длительного периода времени в условиях *ex situ* сопровождалось наблюдениями за их развитием, изучением онтогенеза и хозяйственно ценных признаков. Образцы, сохраняемые в коллекции ВИР, представляют уникальный материал для фундаментальных исследований и практического использования разнообразия возделываемого картофеля и родственных видов в селекции.

Целью настоящей работы является аналитический обзор информации о составе и результатах изучения сохраняемой в ВИР коллекции примитивных культурных видов картофеля; определение перспективных направлений их исследования для решения задач рационального сохранения и эффективного использования в селекции.

Таксономический состав и географическое происхождение примитивных культурных видов картофеля в коллекции ВИР

Таксономический состав коллекции примитивных культурных видов картофеля

Картофель, в сравнении с другими сельскохозяйственными культурами, уникален по разнообразию родственных культурных и диких видов (Hawkes, 1990; Vincent et al., 2013). До настоящего времени нет единой системы классификации видов секции *Petota* рода *Solanum*, но общепризнана значимость и недостаточная изученность разнообразия картофеля и родственных клубненосных видов (Bradshaw, 2009).

Первые работы по классификации клубнеобразующих видов рода *Solanum* бельгийского ботаника Бартелеми Дюмортье (Barthélemy Dumortier), француза Мишеля Феликса Дюналя (Michel Fèlix Dunal), немца Фридриха Августа Георга Биттера (Friedrich August George Bitter) и американского ботаника Пера Акселя Ридберга (Per Axel Rydberg) выполнены на гербарном материале или привезенных растениях (by Ochoa, 2004). После открытия экспедициями сотрудников ВИР разнообразия культивируемых и дикорастущих клубнеобразующих видов в местах их естественного обитания, в странах Центральной и Южной Америки, таксономическое изучение картофелей получило новый импульс. Однако до настоящего времени нет единой, общепризнанной мировым научным сообществом системы клубнеобразующих видов рода *Solanum*.

Сложность классификации видов секции *Petota* отмечали многие исследователи (Correll, 1962; Hawkes, 1990; Ochoa, 2004). В XXI веке молекулярно-генетические методы использованы для разрешения спорных вопросов таксономии и уточнения филогенетических взаимоотношений клубнеобразующих *Solanum* spp. (Gavrilenko et al., 2013; Jacobs et al., 2011; Ovchinnikova et al., 2011; Spooner et al., 2014). Результаты исследователей не вполне согласовывались и не давали однозначного подтверждения какой-либо из существующих систем видов картофеля.

В основу нашей работы с культурными видами картофеля положена система разграничения видов секции *Petota*, разработанная С. М. Букасовым (Bukasov, 1978). В коллекции ВИР представлено разнообразие клубненосных видов *Solanum*, собранное выдающимся учеными-соланологами С. М. Букасовым, С. В. Юзепчуком и их последователями. Необходимость следования разработанной в ВИР системе видов картофеля вызвана самой историей формирования коллекции – на основе первых экспедиционных сборов российских ученых в 1925–1928 гг., а затем дополняемой и структурируемой в соответствии с системой С. М. Букасова. Согласно системе С. М. Букасова, культурные аборигенные виды картофеля Южной Америки сгруппированы в три серии: *Andigena* Buk., в составе которой девять диплоидных (*S. × ajanhuiri* Juz. et Buk., *S. boyacense* Juz. et Buk., *S. cañarense* Buk., *S. goniocalyx* Juz. et Buk., *S. kesselbrenneri* Juz. et Buk., *S. multijugum* Buk. et Bavyko, *S. phureja* Juz. et Buk., *S. rybinii* Juz. et Buk., *S. stenotomum* Juz. et Buk.), четыре триплоидных (*S. × chaucha* Juz. et Buk., *S. cuencanum* Buk., *S. mammilliferum* Juz. et Buk., *S. tenuifilamentum* Juz. et Buk.) и один тетраплоидный (*S. andigenum* Juz. et Buk) виды; серия *Subacaulia* Buk., в составе которой триплоидный вид *S.× juzepczukii* Buk. и пентаплоидный вид *S. × curtilobum* Juz. et Buk.; серия *Tuberosa* (Rydb.) Buk. с единственным видом *S. chilotanum* Hawkes.

Большинство зарубежных специалистов поддерживают классификацию культурных картофелей, предложенную Д. Спунером (Ovchinnikova et al., 2011; Spooner et al., 2014). По мнению Д. Спунера, все разнообразие культурных видов картофеля относится к четырем видам: *S. tuberosum*, в составе которого группа Andigenum объединяет диплоидные, триплоидные и тетраплоидные картофели, выращиваемые в высокогорных районах Анд, а группа Chilotanum – чилийские аборигенные сорта; диплоидный вид *S.× ajanhuiri*, триплоидный *S. × juzepczukii* и пентаплоидный *S. × curtilobum* (Ovchinnikova et al., 2011; Spooner et al., 2014). В группе Andigenum диплоидный картофель с коротким периодом вегетации и клубнями, не имеющими периода покоя, составляет подгруппу Phureja.

Некоторые генные банки, например Международный центр картофеля (CIP), все еще организуют свою коллекцию на основе системы видов картофеля, разработанной Д. Хоксом, который в составе серии *Tuberosa* описывает семь видов культурного картофеля: *S. × ajanhuiri, S. × chaucha*, *S. × curtilobum*, *S. × juzepczukii*, *S. phureja*, *S. stenotomum*, *S. tuberosum*, и большую группу диких и сорных видов (Hawkes, 1990).

Кураторы картофеля во всех генных банках признают обоснованным ревизию ранее разработанных систем видов картофеля, однако отмечают, что система Д. Хокса более удобна для управления коллекцией *ex situ* (Ellis et al., 2020).

Согласно системе С. М. Букасова, картофель, который занимает наибольшие площади в высокогорных районах Анд, – это самостоятельный тетраплоидный вид *S. andigenum*. В. С. Лехнович отмечает, что протяженность основной части ареала *S. andigenum* составляет не менее 36° широты; это узкая, не более 400 км в поперечнике полоса длиной 4000 км на территории Колумбии, Эквадора, Перу, Боливии и горной части Аргентины (Lekhnovich, 1971). Вторичная, бедная формами часть ареала охватывает высокогорья Мексики и Гватемалы. *S. andigenum* включает 10 подвидов, выделенных по географическому принципу с учетом морфологических особенностей (Lekhnovich, 1971).

Коренное население стран Южной и Центральной Америки также возделывает аборигенные сорта, которые были определены русскими ботаниками как новые таксоны при классификации генофонда картофеля. Эта группа так называемых «примитивных видов картофеля» (primitive forms of cultivated potato = primitive cultivars), согласно классификации С. М. Букасова (Bukasov, 1978), которые по своим признакам наиболее близки ранним доместицированным формам клубнеобразующих видов рода *Solanum* (Hawkes, 1990). В коллекции ВИР представлено 573 образца десяти примитивных культурных видов: *S. × ajanhuiri* (8), *S. goniocalyx* (57), *S. phureja* (156), *S. rybinii* (170), *S. stenotomum* (102), *S. × chaucha* (25), *S. mammilliferum* (4), *S. tenuifilamentum* (7), *S. × juzepczukii* (10), *S. × curtilobum* (34), и 13 образцов межвидовых гибридов.

Географическое происхождение образцов примитивных культурных видов картофеля

Территория, на которой возделывает картофель коренное население стран Южной Америки, – это горы и горные долины от 12° северной до 45° южной широты, то есть от Колумбии до Чили (de Haan, Rodriguez, 2016). Культурные виды картофеля произрастают на высоте от 400 до 4300 м н. у. м. (Gorbatenko, 2006). Центр разнообразия культивируемых картофелей – приграничные районы юга Перу и северной части Боливии, в районе озера Титикака, где находится район древней культуры картофеля (Hawkes, 1990). Клубни картофеля вместе с киноа (*Chenopodium quinoa* Willd.) издавна являлись основными продуктами питания индейских племен, проживающих в этом районе Южной Америки. Монофилетическое происхождение диплоидных культурных видов картофеля и локализацию центра их формирования на территории юга Перу – северо-западной части Боливии – подтверждают данные молекулярно-генетического анализа (Spooner et al., 2005: Li et al., 2018).

Участники экспедиций ВИР и зарубежные исследователи отмечают, что культурные виды картофеля в странах Южной Америки не имеют столь четких ареалов, как дикорастущие (Gorbatenko, 2006; de Haan, Rodriguez, 2016; Hawkes, Hjerting 1989; Monteros-Altamirano et al., 2017; Zykin, 1973). Для культурных видов ограничение территорий, на которых возделывается картофель, связано с рядом причин, в том числе с климатическими (например, не все виды переносят заморозки, засуху или высокую влажность) и экономическими условиями (рентабельность выращивания картофеля в данных условиях по отношению к другим сельскохозяйственным культурам), а также с наличием/активностью паразитов/возбудителей болезней картофеля и с культурно-историческим различием территорий (некоторые племена отдают предпочтение определенным видам из-за их внешних или вкусовых качеств).

В целом можно выделить несколько вариантов климатических условий, в которых возделывают примитивные культурные виды картофеля.

Теплый влажный климат горных долин на восточных склонах Анд, где расположена нижняя зона культуры картофелей (2000–2750 м н. у. м.), с умеренными (10–20°C) температурами, отсутствием заморозков, умеренным или значительным (от 750 до более 2000 мм) количеством осадков (Hawkes, Hjerting, 1989). Культурные виды *S. phureja*, *S.* × *surimana*, возделываемые на этой территории, С. М. Букасов относит к группе восточно-боливийской, ранней и теплолюбивой (by Gorbatenko, 2006).

«Вечная весна» – отсутствие четко выраженной сезонности, температуры января и июня не отличаются, но обычно они не слишком высокие (10–15°C). Значительны колебания суточной температуры. Обильные осадки выпадают летом, тогда как на протяжении зимы дождей мало или нет совсем. Такие условия характерны для территорий, расположенных на восточных и западных склонах Анд, в Перу, Боливии, Эквадоре, на высоте 2800 м н. у. м. и выше (Hawkes, Hjerting, 1989; Ochoa, 2004). Виды *S.* × *chaucha*, *S. goniocalyx*, *S. mammilliferum*, *S. phureja*, *S. stenotomum* выращивают в этих условиях.

Сухой и холодный климат высокогорий Анд (от 3500 до 4100 м н. у. м.): среднегодовая температура – 7–10°C, при этом максимальные температуры +20°C, минимальные зимой (май – август) варьируют от 1°C до –16°C. Заметна разница дневных и ночных температур, часты ночные заморозки. В зоне верхних пределов земледелия (3400–4500 м н. у. м.) среднегодовая температура – 0°C, но летом (сентябрь – апрель) поднимается до +15°C и даже +22°C, а в зимний период (май – август) температура понижается до –9°C, и даже до –25°C. Осадков мало – 100–500 мм. В этой зоне выращивают только морозостойкие и засухоустойчивые виды: *S.* × *ajanhuiri*, *S.* × *juzepczukii*, *S.* × *curtilobum* (Hawkes, Hjerting, 1989; Ochoa, 2004).

Возделываемый местным населением многих стран Южной Америки картофель часто представляет собой смесь не только форм одного вида, но нередко разных видов на одном поле. Обычна смесь тетраплоидных *S. andigenum* и диплоидных *S. stenotomum* (Bukasov, 1978). В Перу и Эквадоре фермеры выращивают на одном поле смесь генотипов картофеля, часто разного уровня плоидности (Monteros-Altamirano et al., 2017).

Сегодня специалисты, занимающиеся сбором, изучением и сохранением разнообразия клубнеобразующих видов *Solanum* в Южной Америке, для описания местных форм культурного картофеля используют термин «ландрас». Ландрас – это динамическая популяция культивируемого растения, которая имеет историческое происхождение, отчетливую идентичность и нуждается в формальном улучшении продуктивности, а также часто генетически разнообразна, адаптирована на местном уровне и связана с традиционными системами земледелия (Camacho Villa et al., 2005).

Выделяют три группы ландрасов картофеля: (1) коммерческие, или космополитичные мучнистые сорта, (2) некоммерческие мучнистые сорта и (3) горькие сорта (de Haan, Rodriguez, 2016). Коммерческие сорта, например, диплоидная ‘Peruanita’ в Перу и ‘Criollo Amarilla’ в Колумбии, занимают большие посевные площади, пользуются спросом на рынке и признанием потребителей. Тысячи некоммерческих сортов выращивают мелкие фермеры в высокогорных районах Анд для домашнего потребления. Разнообразие горьких сортов скромнее, чем мучнистых, однако их количество, выращиваемое в Боливии и центральной части юга Перу, составляет не менее 100. Горькие сорта представляют внутривидовое разнообразие *S.* × *curtilobum*, *S.* × *juzepczukii* и некоторых форм *S. andigenum*; их используют для заморозки клубней в чуньо (chuño), морайя (moraya) или тунта (tunta) (de Haan, Rodriguez, 2016).

В коллекции ВИР среди 573 образцов десяти примитивных культурных видов картофеля наиболее представлены *S. rybinii* и *S. phureja.* Число образцов других видов (*S. mammilliferum*, *S. tenuifilamentum*, *S.* × *ajanhuiri*) значительно меньше. Формирование коллекции картофеля ВИР происходило как за счет экспедиционных сборов, так и в результате поступлений из других генных банков. Путем обмена с генбанками интродуцированы образцы из Колумбии (CCC, Collection Central Colombiana), США (Potato Germplasm Introduction Station, United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service), Перу (CIP, Centro Internacional de la Papa), Великобритании (CPC, Commonwealth Potato Collection) и Германии (IPK, Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research). Распределение примитивных культурных видов в зависимости от страны происхождения и число их образцов в коллекции ВИР продемонстрировано на рисунке 1.

Наибольшее количество примитивных культурных видов картофеля в коллекции представлено образцами из Колумбии и Перу.

Перу занимает первое место среди стран Южной Америки по площади, занятой под культуру картофеля, – более 317 тыс. га (de Haan, Rodriguez, 2016). На высокогорных плато, восточных склонах Анд и в горных долинах выращивают многообразие местных форм картофеля (от 2800 до 3300 ландрасов), но местные сорта постепенно вытесняются новыми селекционными сортами. На юге Перу граница возделывания картофеля доходит до самой большой для Южной Америки высоты, которая сегодня составляет 4400 м. н. у. м. По сравнению с 1975 г. картофельные поля переместились в высотном направлении более чем на 300 м вверх (Arce et al., 2019). Из произрастающих в Перу 11 культурных видов картофеля (Gorbatenko, 2006), образцы девяти видов представлены в коллекции ВИР (см. рис. 1).

В Боливии, в зоне от 2000 до 4500 м н. у. м., представлено разнообразие культурных видов картофеля. Местное население возделывает многочисленные сорта, различающиеся по форме и окраске клубней, окраске мякоти, морфологии растений, биохимическому составу клубня, продолжительности периода покоя, скороспелости и другим признакам (Zykin, 1973). Возделываемый картофель – это разные формы, относящиеся к девяти видам: *S. phureja*, *S. rybinii*, *S.* × *ajanhuiri*, *S. stenotomum*, *S.* × *chaucha*, *S. mammilliferum*, *S. goniocalyx*, *S.*× *juzepczukii* и *S.*× *curtilobum*, и все они представлены в коллекции ВИР. Микроцентры генетического разнообразия картофелей в Боливии находятся в департаментах Ла-Пас (La Paz), Кочабамба (Cochabamba) и Потоси (Potosí) (Morante, 2019).

На территории Колумбии, по имеющимся сведениям, произрастают лишь два культурных вида – *S. rybinii* и *S. andigenum*, которые составляют основу поступлений

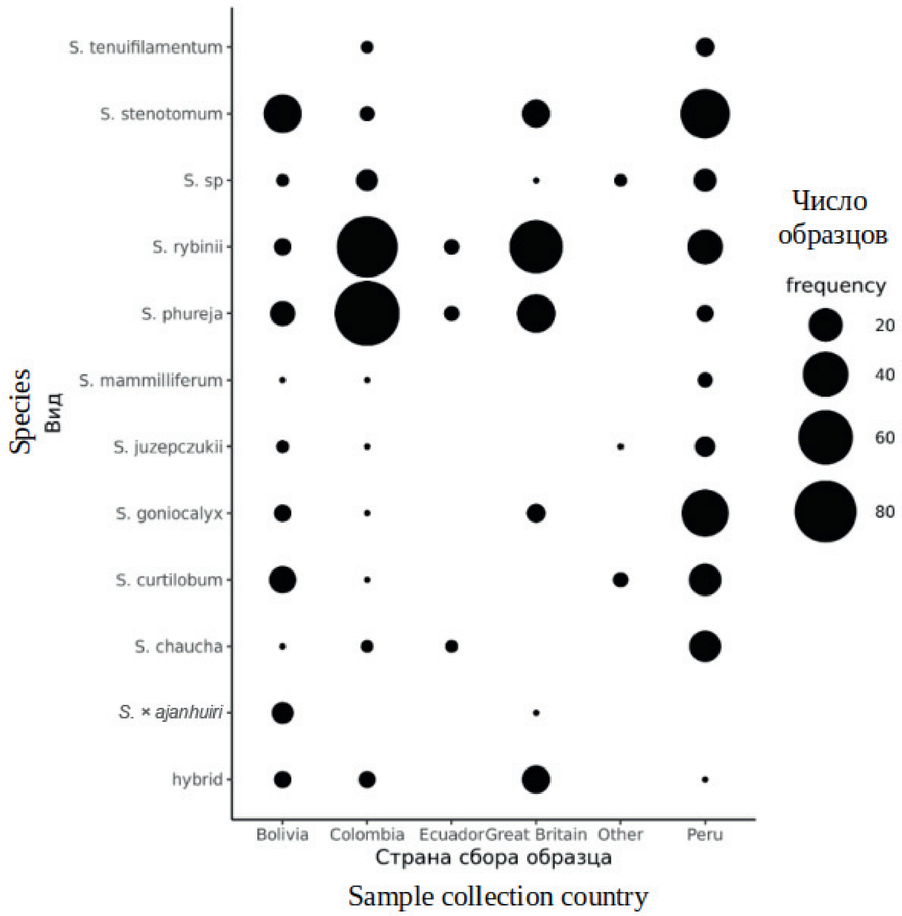


Рис. 1. Распределение примитивных культурных видов картофеля в коллекции ВИР по стране происхождения образцов

Fig. 1. Distribution of primitive cultivated potato accessions across the VIR collection, arranged by the species and the countries of their origin

из этой страны. Образцы остальных видов – *S. tenuifilamentum*, *S. stenotomum*, *S. × chaucha*, *S. mammilliferum*, *S. goniocalyx*, *S. × juzepczukii* и *S. × curtilobum* – поступили с Колумбийской опытной станции, и их происхождение неизвестно.

В Эквадоре произрастают три культурных вида: *S. phureja, S. × chaucha* и *S. tuberosum* subsp. *andigena* (Monteros-Altamirano et al., 2017). Местные специалисты применяют название *S. phureja* к виду *S. rybinii*, в соответствии с позицией Д. Хокса (Hawkes, 1990), который объединяет эти виды по единственному физиологическому признаку – отсутствию периода покоя клубней. В соответствии с системой Д. Спунера (Spooner et al., 2014), в Национальном университете Колумбии образцы местных сортов картофеля относят к группе Phureja (Juyó et al., 2015). С. М. Букасов отмечал, что *S. phureja* возделывается в узком ареале, ограниченном лишь Боливией, в нижней зоне культуры картофелей в Андах (2000–2750 м н. у. м.). Это зона восточных склонов с теплым влажным климатом. Диплоидные сорта картофеля от Эквадора до Венесуэлы, по мнению С. М. Букасова, относятся к *S. rybinii* (Bukasov, 1978)

Довольно большую часть коллекции (116 образцов) занимают образцы, созданные в Великобритании, где путем контролируемого скрещивания получали и сохраняли потомство родительских форм, собранных в разных местностях или обладающих разными характеристиками. Поскольку в этом случае неясно, что считать страной происхождения (например, довольно большая часть образцов появились в результате скрещивания родительских форм из Перу и Боливии), мы выделили их в отдельную группу (см. рис. 1).

Образцы примитивных культурных видов были собраны для коллекции ВИР в результате экспедиций, которые осуществили: С. М. Букасов и С. В. Юзепчук (1925–1928 гг.), А. В. Пухальский и А. Г. Зыкин (1971), К. З. Будин (1972), Н. К. Лемешев и Л. Е. Горбатенко (1973), Г. Е. Шмараев и Л. Е. Горбатенко (1976), А. Ф. Мережко и Н. П. Склярова (1979), А. Г. Зыкин (1980). Самые первые поступления в коллекцию – 13 образцов из экспедиции С. В. Юзепчука 1927 г. Это образцы *S. phureja* – к-99 (Юз 1655) и к-1713 (Юз 1296), оба из Боливии, Сората (Sorata) в департаменте Ла-Пас; *S. tenuifilamentum* – к-1185 (Юз 1185) и *S. stenotomum* – к-1664 (Юз 1172), оба из Перу, округ Помаканчи (Pomacanchi) на юге страны; *S. rybinii* – к-1662 из Колумбии; *S. mammilliferum* – к-1673 (Юз 1339) из Перу, Куско (Cusco); *S. goniocalyx* – к-1667 (Юз 571) из Перу; *S. × curtilobum* – к-1685 (Юз 1642) из Боливии, Тиванаку (Tiahuanaco = Tiwanaku) в департаменте Ла-Пас; а также образцы *S. rybinii* – к-1662, к-1668, к-1680, *S. phureja* – к-1817, *S. × ajanhuiri* – к-2312, места сбора которых не установлены.

Уникальный материал, собранный в результате экспедиций ВИР, – это 106 образцов, приблизительно пятая часть коллекции. Их распределение по странам происхождения представлено на рисунке 2. Виды собраны в четырех странах, фактически именно в них сосредоточен основной ареал примитивных культурных видов картофеля. Среди образцов, привезенных из экспедиций, есть представители всех видов.

культурного картофеля серии *Andigena*, по мнению В. С. Лехновича, отличаются от серии *Tuberosa* более тонким стеблем, меньшим размером долей листа, более многочисленными ягодами, склонностью к вытягиванию растений в условиях недостатка ультрафиолетовых лучей и ареалом (Lekhnovich, 1971). У диплоидных и триплоидных видов серии *Andigena* венчик колесовидный, красно- или сине-фиолетовый, может быть белый

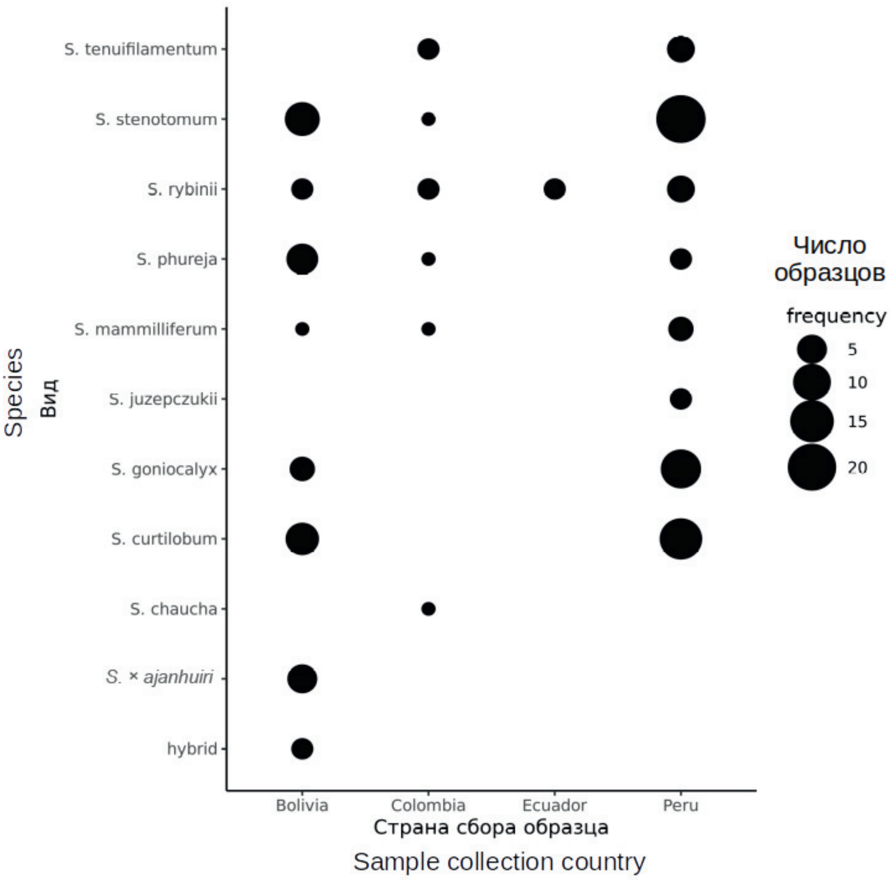


Рис. 2. Распределение образцов примитивных культурных картофелей, собранных в экспедициях ВИР, по видам и стране происхождения

Fig. 2. Distribution of primitive cultivated potato accessions delivered by VIR's collectors, arranged by the species and the countries of their origin

В целом большинство образцов коллекции (188) интродуцированы из Колумбии, но среди них мало (всего восемь) экспедиционных образцов (см. рис. 1 и 2). Наибольшее число образцов (62), собранных в экспедициях ВИР, привезено из Перу (см. рис. 2). Относительно количества видов наибольшее разнообразие – поступления из Перу и Боливии. Единичны образцы из Аргентины, Чили, всего 8 образцов из Эквадора.

Морфобиологические особенности и сохранение *ex situ* примитивных культурных видов картофеля

Описания морфологических признаков растений и клубней образцов культурных видов *Petota* опубликованы в изданиях, подготовленных учеными ВИР на основе многолетних результатов собственных исследований и по литературным данным (Bavyko, 1987, 1989; Gorbatenko, 2006; Kiru et al., 2002; Lekhnovich, 1971). Виды

(у *S. goniocalyx*, *S. rybinii*) или с белыми остроконечиями (у *S. tenuifilamentum*); остроконечия венчика с внутренней стороны преимущественно голые. Клубни разнообразны по форме и окраске, часто с глубокими глазками, могут быть роговидные (изогнутые), удлиненно-овальные, овально-плоские с мелкими глазками, бугристые, веретеновидной формы, удлиненные с тупой вершиной и вдавленным столонным следом, в виде кренделей (Gorbatenko, 2006; Zykin, 1973).

S. stenotomum – вид с самым большим ареалом и разнообразием форм среди диплоидных культурных видов картофеля. Растения *S. stenotomum* имеют сильно рассеченный лист с очень узкими заостренными долями. Число пар долей листа достигает восьми, число пар промежуточных долек может быть более 20. Ширина долей в три-четыре раза меньше их длины (Bukasov, 1978). Чашечка цветка, резко отграниченная от вершины цветоножки, превышает длину половины радиуса венчика, а ее доли имеют хорошо выраженные остроконечия (Lekhnovich, 1971). Описаны формы *S. stenotomum*, отличающиеся от типового описания вида по ширине долей (Bukasov, 1978; Hawkes, 1990).

S. × ajanhuiri – диплоидный морозостойкий вид, отличается от *S. stenotomum* меньшей величиной венчика и чашечки цветка и очень высоким сочленением цветоножки (Hawkes, 1990). Ареал возделывания *S. × ajanhuiri* наименьший в сравнении с ареалами возделывания других видов культурного картофеля. Этот эндемичный вид выращивают на высоте 3800–4100 м н. у. м. в районе озера Титикака. Вид представлен двумя группами сортов, которые отчетливо различаются по морфологии листа, соцветия, цветоножки, чашечки и венчика цветка (Huaman et al., 1980).

S. goniocalyx произрастает в высокогорных районах центрального и южного Перу, отличается от *S. stenotomum* более крупным цветком, ребристым основанием чашечки (что отражено в названии вида), более тупыми и широкими, удлиненно-яйцевидной формы долями листа (Gorbatenko, 2006). Клубни *S. goniocalyx* более крупные, чем у других диплоидных видов картофеля, с нетемнеющей мякотью интенсивной желтой окраски (Bukasov, 1978; Hawkes, 1990). У растений *S. stenotomum*, *S. × ajanhuiri* и *S. goniocalyx* клубни формируются через 5-6 месяцев вегетации и имеют длительный период покоя, что отличает эти виды от *S. phureja*, *S. rybinii* и *S. × chaucha*.

S. phureja – диплоидный вид наиболее низких (1000–2750 м н. у. м.) горных долин на юге Перу и в Боливии. Растения *S. phureja* часто имеют стебли, окрашенные антоцианом, лист широкий, короткий, с небольшими хорошо выраженными стерженьками долей, сочленение цветоножки около середины. Вид отличается исключительной скороспелостью, период вегетации 3-4 месяца. Клубни имеют очень короткий период покоя, в жаркую погоду молодые клубни израстают под материнским кустом (Zykin, 1973).

S. × chaucha возделывают в Боливии и прилегающих территориях Перу. Основной отличительный признак растений этого вида – доли венчика, ширина которых в три раза превышает длину.

S. rybinii произрастает от Колумбии до Эквадора. Растения в сравнении с другими видами культурного картофеля невысокие, имеют небольшие листья с малым числом (1–3, редко 4) пар долей, клубни округлые с мелкими глазками. Сходство растений *S. boyacense*, *S. cañarense*, *S. cuencanum*, *S. kesselbrenneri* и *S. rybinii* дало основание Л. Е. Горбатенко присоединить их в качестве форм к виду *S. rybinii* (Gorbatenko, 2006).

Растения серии *Subacaulia* видов *S. × juzepczukii* и *S. × curtilobum* в начальной стадии развития розетковидные, затем с развитыми стеблями, с морозостойкими листьями, имеют очень короткие лопасти долей венчика, формируют крупные (размером 6 × 6 × 3 см) клубни на коротком дне. Основные признаки, которые отличают *S. × curtilobum*, – это высоко расположенное сочленение цветоножки, длинный цветонос и крупный венчик (3–3,5 см в диаметре). У растений *S. × juzepczukii* сочленение цветоножки не очень выраженное, цветонос короче и венчик меньшего размера (до 2,5 см в диаметре). Эти два вида культурного картофеля приспособлены к суровым почвенно-климатическим условиям у верхних границ земледелия в странах Южной Америки. Клубни в сыром виде имеют горький вкус, их используют для приготовления чуньо и тунто, которые хранятся индейскими семьями как запасные продукты питания (Zykin, 1973).

Некоторые сорта другого морозостойкого вида *S. × ajanhuiri* (сортотип Ajawiri) образуют негорькие клубни, пригодные для непосредственного употребления в пищу (Huamán et al., 1980). У местного населения Южной Америки существует множество способов приготовления и приема пищи из картофеля, зависящих от вкуса, крахмалистости и толщины кожуры клубней. В Боливии, например, среди прочих выращивают сорта безвкусные, с твердой консистенцией мякоти, которые едят с глиной, размешанной в соленой воде (Zykin, 1973). Качество клубней культурных видов картофеля определяется генотипом, но содержание сухого вещества, содержание каротиноидов, антиоксидантов и гликоалкалоидов в значительной степени варьируют при изменении климатических или почвенных условий выращивания. Например, ландрасы Эквадора в зависимости от места выращивания проявляют широкий спектр вариабельности по содержанию в клубнях редуцирующих сахаров (от 0,01–0,07% до 0,37–0,44%), фенолов (от 0,94 до 4,28 мг/г сухого вещества), каротиноидов (от 35 до 122,5 мкг/100 г сырого вещества). Высоким содержанием каротиноидов характеризуются картофели группы Phureja с желтой мякотью клубней (Cuesta Subía, 2013). В клубнях некоторых образцов *S. phureja* содержание каротиноидов достигает 1258–1840 мкг/100 г сырого вещества (Burgos et al., 2009). Вид *S. phureja* отличается повышенным (до 7,65%) содержанием белка в клубнях (Hawkes, Hjerting, 1969).

Изучение и воспроизводство образцов коллекции диких и культурных клубненосных видов *Solanum* проводится на опытном поле научно-производственной базы (НПБ) «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» под Санкт-Петербургом на протяжении более 50 лет. Многолетние наблюдения выявили особенности роста и развития растений примитивных культурных видов картофеля в природно-климатических условиях, отличных от мест естественного произрастания. При изучении 369 образцов в условиях Ленинградской обл. (Санкт-Петербург, Пушкин) в период с 1965 по 1987 г. в течение 14 лет у растений, выращенных из семян примитивных культурных видов, а также дикого вида *S. chacoense*, гибридов с этим видом и гибридов с гаплоидами *S. tuberosum* и *S. andigenum* отмечены ненаследуемые аномалии листьев (Bavyko, 1989). Аномалии выражались в изменении формы долей, рассеченности листьев, чаще отмечались на листьях, расположенных ближе к первому соцветию, предположительно являлись отклонениями онтогенетического развития (Bavyko, 1989).

В результате изучения более 250 образцов культурных видов картофеля в 90-х годах XX века установлена внутривидовая вариабельность по фотопериодизму клубнеобразования (Kiru et al., 2002). Растения, выращенные из семян *S. phureja*, *S. × ajanhuiri* и *S. stenotomum* в условиях длинного дня северных широт, проявляли короткодневную или нейтральную фотопериодическую реакцию клубнеобразования в зависимости от образца. Видовая особенность – короткий период покоя клубней – оказалась стабильным признаком у всех изученных образцов *S. phureja* и у более 90% образцов *S. rybinii*. Клубни *S. × ajanhuiri* и *S. stenotomum* имели средний или длительный период покоя.

Интродукция образцов клубнеобразующих видов рода *Solanum* в коллекцию ВИР длительное время осуществлялась в виде семян и клубней (Gorbatenko, 2006). С развитием технологии хранения и воспроизводства генетических ресурсов растений в культуре *in vitro* часть образцов из зарубежных генных банков стала поступать в виде растений *in vitro*. Введение в культуру *in vitro* или криоконсервация для надежного сохранения генофонда применяются в настоящее время для сохранения наиболее ценных генотипов картофеля и родственных видов из коллекции ВИР (Antonova et al., 2017; Gavrilenko et al., 2019).

Основной тип хранения образцов примитивных культурных видов картофеля в коллекции ВИР – в виде семян (табл. 1). В низкотемпературном хранилище ВИР в зависимости от вида сохраняется разное число образцов и разное число семенных репродукций отдельных образцов. Большинство диплоидных видов хорошо завязывают ягоды и особенно устойчиво дают семена в первые несколько лет после посева. Высокая и почти ежегодная завязываемость семян характерна для образцов наиболее распространенных диплоидных видов: *S. phureja*, *S. stenotomum*, *S. goniocalyx*. Менее стабильно образование семян у редких видов *S. mammilliferum*, *S. tenuifilamentum* и триплоидных видов *S. × chaucha*, *S. × juzepczukii* (см. табл. 1).

к-23536; *S. × curtilobum* – к-6164, к-23289; *S. goniocalyx* – к-9019; *S. rybinii* – к-9332, к-12188, к-15921, к-19323; *S. stenotomum* – к-10479; *S. tenuifilamentum* – к-13625; *S. mammilliferum* – к-16163 представлены только в полевой коллекции. Образцы *S. phureja* – к-20976; *S. × curtilobum* – к-9624 (собран экспедицией К. З. Будина) и к-13258, к-13392; *S. rybinii* – к-9389, к-15247; *S. stenotomum* – к-13738, к-24333 представлены только в виде семенной репродукции, не заложенной на хранение.

Примитивные культурные виды картофеля – источники хозяйственно ценных признаков

Различия в естественных условиях произрастания видов и образцов одного вида обуславливают наличие у них разнообразия хозяйственно ценных признаков. Так, собранные в теплом влажном климате образцы *S. rybinii* устойчивы к некоторым бактериальным заболеваниям: бактериальному вилту (возбудитель *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi), черной ножке (*Erwinia* spp.). Среди примитивных культурных видов картофеля

Таблица 1. Распределение видов по типу хранения образцов в коллекции ВИР

Table 1. Distribution of the accessions of potato species, arranged by the mode of their storage in the VIR collection

Вид	Тип хранения						Всего образцов в коллекции
	Семена				клубни	*in vitro*	
	Число образцов	Число репродукций*	Среднее количество репродукций на образец	Максимальное количество репродукций на образец			
S. × ajanhuiri	8	31	3,88	6	6	4	8
S. × chaucha	3	13	0,59	6	3	19	22
S. × curtilobum	23	82	2,41	7	18	9	34
S. goniocalyx	53	213	3,94	8	33	24	54
S. × juzepczukii	4	13	1,30	5	3	7	10
S. mammilliferum	3	11	2,75	4	4	0	4
S. phureja	136	523	3,63	8	100	12	144
S. rybinii	159	654	3,99	7	85	11	164
S. sp.	23	79	3,04	6	19	1	26
S. stenotomum	91	337	3,66	8	60	20	92
S. tenuifilamentum	6	17	2,43	5	6	1	7
hybrid	22	80	3,64	6	13	1	22
Итого	531	2053	2,94	8	350	109	587

* – данные по репродукциям представлены за последние 10 лет.
* – the data concerning reproductions are given only for the past 10 years

В настоящее время только часть образцов культурных видов картофеля в коллекции ВИР представлена всеми типами хранения: 350 образцов (более половины коллекции) сохраняются в виде семян и в клубневой репродукции; 109 образцов сохраняются в форме *in vitro*. Часть генофонда представлено ограниченным числом семян или только растениями *in vitro*. Образцы *S. phureja* – к-5972, к-22242, к-22244, к-23530, к-23531,

S. phureja обладает наиболее высокой степенью устойчивости к фитофторозу (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary), стабильной в течение многих лет (Gorbatenko, 2006). *S. phureja* является ценным источником жаростойкости, а высокогорные виды *S. × ajanhuiri*, *S. × curtilobum*, *S. × juzepczukii* – морозоустойчивости (Hawkes, Hjerting, 1989). С точки зрения селекции, наиболее интересны физиологические отличия: образцы по-разному реагируют на удлинение светового дня, низкие температуры, некоторые не обладают выраженным периодом покоя. Многие образцы являются раннеспелыми, что дало возможность включить их в селекцию для выведения двуурожайных сортов.

ше обыкновенной (*Streptomyces scabies* (Thaxter) Waksman et Henrici) (Kiru et al., 2003). Скрининг генофонда выявил формы с высокой горизонтальной устойчивостью к фитофторозу у видов *S. phureja, S. rybinii, S. goniocalyx*, *S. mammilliferum* и *S. ×curtilobum* (см. табл. 2).

Таблица 2. Устойчивость примитивных культурных видов картофеля к болезням и вредителям
(по Bavyko, 1987; Kiru et al., 2003)

Table 2. Resistance of primitive cultivated potato species to diseases and pests
(according to Bavyko, 1987; Kiru et al., 2003)

Вид	Устойчивость к болезням и вредителям							
	Фитофтороз	ХВК	SВК	МВК	YВК	ЗКН	Ризоктониоз	Парша обыкновенная
S. × ajanhuiri	0	+	0	0	+	–	–	–
S. × curtilobum	+	+	0	0	+	–	+	–
S. goniocalyx	+	0	+	0	+	–	+	+
S. mammilliferum	+	0	0	0	0	–	0	0
S. phureja	+	+	+	+	+	–	+	+
S. rybinii	+	+	0	+	+	+	+	+
S. stenotomum	+	+	0	+	+	+	+	+
S. tenuifilamentum	0	+	+	0	+	–	+	+

Примечание: «**+**» – выделены устойчивые образцы; «0» – отсутствие признака; «–» – нет данных оценки
Note: '+' means that resistant accessions were identified; '0' means that the trait is absent; '–' means no data

Образцы культурных видов картофеля из коллекции ВИР оценены в полевых и лабораторных опытах по комплексу хозяйственно ценных признаков (скороспелости, короткому периоду покоя, компактности гнезда, устойчивости к механическим повреждениям и заморозкам), устойчивости к болезням и вредителям. Выделены источники ценных для селекции признаков: устойчивости к абиотическим и биотическим стрессовым факторам, высоких столовых и технологических качеств клубней (Bavyko, 1989; Kiru et al., 2002).

Оценка поражаемости образцов примитивных культурных видов картофеля возбудителями болезней в полевых и лабораторных опытах проводилась в 1965–1987 гг. многими НИУ – на Ленинградской и Черновицкой опытных станциях по раку картофеля, в Белорусском НИИ защиты растений, на опытных станциях ВИР: Майкопской, Устимовской, Дальневосточной и Полярной, в Московском отделении ВИР, в Пушкинских лабораториях, в Ленинградском сельскохозяйственном институте, Северо-Западном институте сельского хозяйства, на Сахалинской ОС ВНИИФ. Анализ многолетних данных показал, что большинство коллекционных образцов устойчивы к обычному патотипу возбудителя рака картофеля (*Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc.), устойчивость к остальным болезням и вредителям выявлена у отдельных образцов или клонов, отобранных в семенном потомстве некоторых образцов (Kiru et al., 2002).

В ВИР в 1997–2001 гг. проведено комплексное изучение генофонда культурных видов картофеля с целью выделения форм, обладающих устойчивостью к фитофторозу, X-, S-, M-, Y-вирусам, золотистой картофельной нематоде патотипа Ro1 (*Globodera rostochiensis* Woll.), ризоктониозу (*Rhizoctonia solani* J.G. Kühn) и пар-

Выделены образцы *S. phureja*, *S. rybinii*, *S. stenotomum*, *S. × curtilobum*, устойчивые к X- и Y-вирусам картофеля при искусственном заражении (Bavyko, 1987). Отмечено широкое распространение S- и M-вирусов в полевой коллекции культурных видов картофеля. Выделены единичные образцы *S. goniocalyx, S. phureja*, *S. tenuifilamentum* с относительной устойчивостью к S-вирусу, выделены только толерантные к M-вирусу образцы *S. phureja*, *S. rybinii*, *S. stenotomum* (см. табл. 2). Обнаружена неоднородность образцов примитивных культурных видов картофеля по восприимчивости к возбудителям ризоктониоза и разных видов парши. Среди изученных 172 образцов, представляющих виды *S. goniocalyx*, *S. phureja*, *S. rybinii*, *S. stenotomum*, *S. tenuifilamentum*, *S. mammilliferum*, доминировали образцы со слабой и средней степенью поражения клубней ризоктониозом и паршой обыкновенной, со средней и сильной степенью поражения клубней паршой серебристой (*Helminthosporium solani* Durieu & Mont.). Высокой устойчивостью к парше серебристой обладали только единичные образцы *S. goniocalyx*, *S. phureja*, *S. rybinii*, *S. stenotomum* (Kiru et al., 2003). В коллекции ВИР выделены образцы *S. rybinii*, устойчивые к черной ножке, макроспориозу (*Alternaria solani* Sorauer), ооспорозу (*Oospora pustulans* M.N. Owen et Wakef.) и фомозу (*Phoma exigua* var. *exigua*) (Bavyko, 1989).

Ценность для селекции представляют источники комплексной устойчивости к болезням и вредителям: *S. phureja* – к-1815в (устойчивость к фитофторозу, X-, S-, M-, Y-вирусам), к-9836 (устойчивость к фитофторозу, X-, M-, Y-вирусам); *S. tenuifilamentum* – к-1185 (устойчивость к X-, S-, Y-вирусам); *S. rybinii* – к-5945 (устойчивость к фитофторозу, X-, Y-вирусам); *S. stenotomum* – к-7105 (устойчивость к фитофторозу, X-, Y-вирусам), к-9357 (устойчивость к фитофторозу, золотистой нематоде, парше обыкновенной).

В коллекции ВИР выделены образцы с хорошим вкусом, нежной, нетемнеющей мякотью клубней. Хорошие столовые качества имеют клубни *S. rybinii* – к-1678, к-4442, к-5945, *S. stenotomum* – к-9971, к-10194. Содержание крахмала в клубнях образцов примитивных культурных видов картофеля варьирует от 7% до 26%. Высокое (22–24%) содержание крахмала отмечено у *S. phureja* – к-1815в; *S. rybinii* – к-1680, к-8591, к-10469, к-11545. Содержание белка в клубнях образцов коллекции ВИР составляет 1,3–4,3%. Высокое (более 4%) содержание белка отмечено у образцов *S. phureja* – к-1815в; *S. rybinii* – к-5954, к-7153, *S. stenotomum* – к-1664, *S. × curtilobum* – к-9909 (Bavyko, 1989).

Культурные виды картофеля относятся к первичному генофонду, представители которого легко скрещиваются и дают жизнеспособное гибридное потомство (Harlan, de Wet, 1971). *S. phureja* уже длительное время используется в селекции и входит в родословные многих европейских сортов картофеля. Межвидовая гибридизация диплоидного *S. phureja* и гексаплоидного североамериканского вида *S. demissum* (источника генов устойчивости к фитофторозу) позволила получить фертильные тетраплоидные гибриды, которые легко скрещивались с *S. tuberosum* (Ross, 1986). *S. rybinii* как источник устойчивости к Y-вирусу использовали при выведении сортов картофеля в SCRI – Scottish Crop Research Institute (Научно-исследовательский институт растениеводства Шотландии) (Bradshaw, 2009). Для расширения генетической базы селекции в середине XX столетия в европейских селекционных программах использовали популяции адаптированных к длинному дню образцов *S. tuberosum* subsp. *andigena* (Neotuberosum) и *S. phureja* / *S. stenotomum.* В потомстве от скрещивания адаптированной диплоидной популяции с тетраплоидными сортами картофеля выделены гибриды, урожайность которых была выше, чем внутривидовых гибридов *S. tuberosum.* Однако эти гибриды не были использованы как родительские линии при создании сортов, так как унаследовали неправильную форму клубней и отсутствие периода покоя, свойственные *S. phureja* (Bradshaw, 2009).

Российскими селекционерами созданы сорта картофеля с участием *S. phureja*, *S. rybinii*, *S. × curtilobum.* На Полярной опытной станции ВИР методом межвидовой гибридизации *S. tuberosum* и *S. boyacense* были выведены первые в мире двуурожайные сорта ‘Хибины 3’ (Epicure × *S. boyacense*) и ‘Хибинский двуурожайный’ (*S. boyacense* × Brigitta). В Московском отделении ВИР селекционер М. Рухлядева создала с участием *S. × curtilobum* сорта ‘Фирменный’ и ‘Янтарный’, не возделываемые в настоящее время. По данным Л. И. Костиной, *S. phureja* присутствует в родословных 11 российских сортов – сложных многовидовых гибридов: ‘Алый парус’, ‘Бронницкий’, ‘Вдохновение’, ‘Даная’, ‘Загадка Питера’, ‘Лига’, ‘Наяда’, ‘Русская красавица’, ‘Сиреневый туман’, ‘Снегирь’, ‘Чародей’ (Kostina, Kosareva, 2017).

Детальное изучение на протяжении XX столетия морфологических признаков, физиологии, цитологии, биохимии видов секции *Petota* рода *Solanum* в коллекции ВИР имело важное теоретическое значение. Обнаруженный внутривидовой полиморфизм культурных и диких родичей картофеля по фотопериодической реакции клубнеобразования, устойчивости к различным патогенам и неблагоприятным факторам среды подтверждал концепцию Н. И. Вавилова о необходимости дифференциального понимания вида (Vavilov, 1935). Для отечественной селекции картофеля практическое значение имели выявленные в пределах видов *Solanum* определенные формы, которые обладали необходимыми признаками. Межвидовые гибриды картофеля с групповой устойчивостью к фитофторозу и нематоде созданы К. З. Будиным с использованием образцов *S. phureja*, *S. rybinii* и дикорастущих видов *S. stoloniferum*, *S. vernei*. Сорт ‘Акжар’ выведен в Казахстане на основе полученной в ВИР родительской линии с участием *S. rybinii* и *S. andigenum*.

В последние два десятилетия методы молекулярной генетики обеспечили необычайный прогресс в исследовании разнообразия культурных растений и их родичей. Изучение примитивных культурных видов картофеля, в первую очередь диплоидных видов из коллекции ВИР, с помощью современных методов генетического анализа представляет особый интерес. В настоящее время только небольшая часть коллекции, образцы, сохраняемые в культуре *in vitro*, охарактеризована по спектру SSR-маркеров, уровню плоидности и морфологическим признакам (Gavrilenko et al., 2013). Как источники селекционно ценных признаков (источники генов устойчивости к *G. rostochiensis*) изучены лишь два образца *S. phureja* (Kochetov et al., 2017).

Многочисленные публикации зарубежных исследователей сообщают об идентифицированных генах или генах-кандидатах, участвующих в обеспечении устойчивости диплоидных видов и гибридов к фитофторозу, вирусам, нематоде, в проявлении пигментной окраски кожуры и мякоти, разнообразия формы клубней. Источники селекционно ценных признаков, выявленные среди образцов примитивных видов картофеля из коллекции ВИР, представляют перспективный материал для выяснения генетической природы устойчивости видов секции *Petota* к неблагоприятным факторам среды, физиологических особенностей, биохимических показателей.

Секвенированная последовательность генома *S. pjureja* DM1-3 516R44 является удвоенным моноплоидом и не отражает разнообразия гетерозиготных генотипов диплоидного вида. Только 86% из 844 Мб генома собрано, и существуют пробелы (gaps) в референсной последовательности, поэтому использование информации для поиска целевых генов имеет ограничения. Подробная характеристика гермоплазмы культурных родичей картофеля, изучение генетического разнообразия образцов коллекции ВИР, выявление аллельных вариантов необходимы для выяснения генетической природы ценных признаков, более эффективного использования генофонда картофеля в селекции. Ресеквенирование генотипов *S. pjureja* позволит уяснить степень генетического сходства и различия между близкородственными видами и образцами внутри вида.

Коллекция примитивных видов картофеля ВИР может стать основой для решения фундаментальных биологических проблем, например, адаптации к изменяющимся факторам среды. Большое число естественных популяций, семенных образцов примитивных культурных видов картофеля, полученных в конкретных почвенно-климатических условиях при воспроизводстве коллекции ВИР, имеют высокую ценность для характеристики вариабельности генофонда. Многолетние сборы семенных репродукций коллекционных образцов разной степени генетического родства являются основой для изучения молекулярных и генетических основ адаптивности картофеля к изменению внешних условий. Сравнение геномов близкородственных форм, представляющих популяции одного коллекционного образца, позволит выявить локусы, которые находятся под влиянием отбора.

В составе коллекции примитивных культурных видов картофеля ВИР есть уникальные образцы, собранные экспедициями ВИР, и семенные репродукции образцов, депонированных из других коллекций. Скоординированное исследование генофонда культурных родичей является новым междисциплинарным направлением «Genomic-based plant germplasm research – GPGR», которое ориентировано на выявление аллельного разнообразия в образцах (accessions), представленных в генбанках и других коллекциях *ex situ* (Jia et al., 2017). Описание растений по комплексу показателей, их морфологические и биологические особенности, сформированные в условиях, отличных от естественных мест произрастания, представляют ценную первичную информацию. Накопленный за предшествующий период объем данных позволяет сегодня осуществить точечный выбор образцов наиболее перспективных для молекулярно-генетического анализа генофонда.

Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0662-2019-0004 «Коллекции вегетативно размножаемых культур (картофель, плодовые, ягодные, декоративные, виноград) и их диких родичей ВИР – изучение и рациональное использование».

The research was performed within the framework of the State Task according to the theme plan of VIR, Project No. 0662-2019-0004 "Collections of Vegetatively Propagated Crops (Potato, Fruit, Berry and Ornamental Crops, Grapes) and Their Wild Relatives at VIR: Studying and Sustainable Utilization".

References/Литература

Anglin N.L., Amri A., Kehel Z., Ellis D. A case of need: linking traits to genebank accessions. *Biopreservation and Biobanking*. 2018;16(5):337-349. DOI: 10.1089/bio.2018.0033

Antonova O.Yu., Apalikova O.V., Ukhatova Yu.V., Krylova E.A., Shuvalov O.Yu., Shuvalova A.R. et al. Eradication of viruses in microplants of three cultivated potato species (*Solanum tuberosum* L., *S. phureja* Juz. & Buk., *S. stenotomum* Juz. & Buk.) using combined thermo-chemotherapy method. *Agricultural Biology*. 2017;52(1):95-104. [in Russian] (Антонова О.Ю., Апаликова О.В., Ухатова Ю.В., Крылова Е.А., Шувалов О.Ю., Шувалова А.Р. и др. Оздоровление микрорастений трех культурных видов картофеля (*Solanum tuberosum* L., *S phureja* Juz. & Buk. и *S. stenotomum* Juz. & Buk.) от вирусов методом комбинированной термо-химиотерапии. *Сельскохозяйственная биология*. 2017; 52 (1): 95-104). DOI: 10.15389/agrobiology.2017.1.95rus

Arce A., de Haan S., Juarez H., Burra D.D., Plasencia F., Ccanto R. et al. The spatial-temporal dynamics of potato agrobiodiversity in the highlands of Central Peru: A case study of smallholder management across farming landscapes. *Land*. 2019;8(11):169. DOI: 10.3390/land8110169

Aversano R., Contaldi F., Ercolano M.R., Grosso V., Iorizzo M., Tatino F. et al. The *Solanum commersonii* genome sequence provides insights into adaptation to stress conditions and genome evolution of wild potato relatives. *The Plant Cell*. 2015; 27(4):954-968. DOI: 10.1105/tpc.114.135954

Bavyko N.F. Catalogue of the VIR global collection. Issue 519. Primitive cultural potato species from South America. Leningrad: VIR; 1989. [in Russian] (Бавыко Н.Ф. Каталог мировой коллекции ВИР. Выпуск 519. Примитивные культурные виды картофеля Южной Америки. Ленинград: ВИР; 1989).

Bavyko N.F. Tolerance and resistance in primitive cultivated potato species to single viruses. *Bulletin of Applied Botany, Genetics and Plant Breeding*. 1987;115:49-53. [in Russian] (Бавыко Н.Ф. Толерантность и устойчивость к отдельным вирусам примитивных культурных видов картофеля. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 1987;115:49-53).

Bradshaw J. Potato breeding at the Scottish Plant Breeding Station and the Scottish Crop Research Institute: 1920–2008. *Potato Research*. 2009;52(2):141-172. DOI: 10.1007/s11540-009-9126-5

Bukasov S.M. Principles of the systematics of potatoes. *Bulletin of Applied Botany, Genetics and Plant Breeding*. 1978;62(1):3-35. [in Russian] (Букасов С.М. Принципы систематики картофеля. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 1978;62(1):3-35).

Burgos G., Salas E., Amoros W., Auqui M., Muñoa L., Kimura M. et al. Total and individual carotenoid profiles in *Solanum phureja* of cultivated potatoes: I. Concentrations and relationships as determined by spectrophotometry and HPLC. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2009;22(6):503-508. DOI: 10.1016/j.jfca.2008.08.008

Bykova I.V., Shmakov N.A., Afonnikov D.A., Kochetov A.V., Khlestkina E.K. Achievements and prospects of applying high-throughput sequencing techniques to potato genetics and breeding. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2017;21(1):96-103. [in Russian] (Быкова И.В., Шмаков Н.А., Афонников Д.А., Кочетов А.В., Хлесткина Е.К. Достижения и перспективы использования методов высокопроизводительного секвенирования в генетике и селекции картофеля. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2017;21(1):96-103). DOI: 10.18699/VJ17.227

Camacho Villa T.C., Maxted N., Scholten M., Ford-Lloyd B. Defining and identifying crop landraces. *Plant Genetic Resources*. 2005;3(3):373-384. DOI: 10.1079/PGR200591

Correll D.S. The potato and its wild relatives: Section *Tuberarium* of the genus *Solanum*. Renner, Texas: Texas Research Foundation; 1962.

Cuesta Subía X. Potato quality traits: variation and genetics in Ecuadorian potato landraces [dissertation]. Wageningen: Wageningen University; 2013.

De Haan S., Rodrigues F. Potato origin and production. In: J. Singh, L. Kaur (eds). *Advances in Potato Chemistry and Technology*. 2nd ed. San Diego: Elsevier Science Publishing Co. Inc.; 2016. p.1-32. DOI: 10.1016/B978-0-12-800002-1.00001-7

Ellis D., Salas A., Chavez O., Gomez R., Anglin N. Ex situ conservation of potato [*Solanum* section *Petota* (Solanaceae)] genetic resources in genebanks. In: H. Campos, O. Ortiz (eds). *The Potato Crop. Its Agricultural, Nutritional and Social Contribution to Humankind.* Cham, Switzerland: Springer International Publishing; 2020. p.109-138. DOI: 10.1007/978-3-030-28683-5_4

FAO. The Second Report on the World's Plant Genetic Resources for Food and Agriculture. Rome, Italy: FAO;

2010. Available from: http://www.fao.org/3/i1500e/i1500e00.htm [accessed May 06, 2020].

Gavrilenko T., Antonova O., Shuvalova A., Krylova E., Alpatyeva N., Spooner D.M. et al. Genetic diversity and origin of cultivated potatoes based on plastid microsatellite polymorphism. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2013;60(7):1997-2015. DOI: 10.1007/s10722-013-9968-1

Gavrilenko T.A., Shvachko N.A., Volkova N.N., Ukhatova Yu.V. A modified droplet vitrification method for cryopreservation of shoot tips from *in vitro* potato plants. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(4):422-429. [in Russian] (Гавриленко Т.А., Швачко Н.А. Волкова Н.Н., Ухатова Ю.В. Модифицированный метод дроплет-витрификации для криоконсервации апексов *in vitro* растений картофеля. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2019;23(4):422-429). DOI: 10.18699/VJ19.505

Gorbatenko L.E. Potato species of South America: ecology, geography, introduction, systematics, and breeding significance. (Vidy kartofelya Yuzhnoy Ameriki: ekologiya, geografiya, introduktsiya, sistematika, selektsionnaya znachimost). St. Petersburg: VIR; 2006. [in Russian] (Горбатенко Л.Е. Виды картофеля Южной Америки: экология, география, интродукция, систематика и селекционная значимость. Санкт-Петербург: ВИР; 2006).

Hardigan M.A., Laimbeer F.P.E., Newton L., Crisovan E., Hamilton J.P., Vaillancourt B. et al. Genome diversity of tuber-bearing *Solanum* uncovers complex evolutionary history and targets of domestication in the cultivated potato. *PNAS*. 2017;114(46).E9999-E10008. DOI: 10.1073/pnas.1714380114

Harlan J.R., de Wet J.M.J. Toward a rational classification of cultivated plants. *Taxon*. 1971;20(4):509-517. DOI: 10.2307/1218252

Hawkes J.G. The potato: Evolution, biodiversity and genetic resources. London: Belhaven Press, 1990.

Hawkes J.G., Hjerting J.P. The potatoes of Argentina, Brazil, Paraguay and Uruguay. Biosystematic Study. Oxford: Clarendon Press; 1969.

Hawkes J.G., Hjerting J.P. The potatoes of Bolivia: Their breeding value and evolutionary relationships. Oxford; Clarendon Press; 1989.

Huamán Z., Hawkes J.G., Rowe P.R. *Solanum ajanhuiri*: An important diploid potato cultivated in the andean altiplano. *Economic Botany*. 1980;34(4):335-343. DOI: 10.1007/BF02858307

Jacobs M.M.J., Smulders M.J.M., van den Berg R.G., Vosman B. What's in a name; Genetic structure in *Solanum* section *Petota* studied using population-genetic tools. *BMC Evolutionary Biology.* 2011;11:42. DOI: 10.1186/1471-2148-11-42

Jia J., Li H., Zhang X., Li Z., Qiu L. Genomics-based plant germplasm research (GPGR). *The Crop Journal*. 2017;5(2):166-174. DOI: 10.1016/j.cj.2016.10.006

Juyó D., Sarmiento F., Álvarez M., Brochero H., Gebhardt C., Mosquera T. Genetic diversity and population structure in diploid potatoes of *Solanum tuberosum* group Phureja. *Crop Science*. 2015;55(2):760-769. DOI: 10.2135/cropsci2014.07.0524

Kiru S.D., Bavyko N.F., Palekha S.V., Evstratova L.P. Catalogue of the VIR global collection. Issue 738. Cultivated potato species. St. Petersburg: VIR; 2002. [in Russian] (Киру С.Д., Бавыко Н.Ф., Палеха С.В., Евстратова Л.П. Каталог мировой коллекции ВИР. Выпуск 738. Культурные виды картофеля. Санкт-Петербург: ВИР; 2002).

Kiru S.D., Palekha S.V., Makovskaya S.A., Patrikeeva M.V., Evstratova L.P. South American cultivated potato species as gene sources in breeding for resistance to pathogens. (Yuzhnoamerikanskiye kulturnye vidy kartofelya kak geneticheskiy istochnik dlya selektsii na ustoychivost k patogenam). *Plant Protection News*. 2003;2:48-53. [in Russian] (Киру С.Д., Палеха С.В., Маковская С.А., Патрикеева М.В., Евстратова Л.П. Южноамериканские культурные виды картофеля как генетический источник для селекции на устойчивость к патогенам. *Вестник защиты растений*. 2003; 2:48-53).

Kiru S.D., Rogozina E.V. Mobilization, conservation and study of cultivated and wild potato genetic resources. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2017;21(1):7-15. [in Russian] (Киру С.Д., Рогозина Е.В. Мобилизация, сохранение и изучение генетических ресурсов культивируемого и дикорастущего картофеля. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2017;21(1):7-15). DOI: 10.18699/VJ17.219

Khlestkina E.K., Shumny V.K., Kolchanov N.A. Marker-assisted selection and examples of its application in world potato growing. *Achievements of Science and Technology of AIC*. 2016;30(10):5-8. [in Russian] (Хлесткина Е.К., Шумный В.К., Колчанов Н.А. Маркер-ориентированная селекция и примеры ее использования в мировом картофелеводстве. *Достижения науки и техники АПК*. 2016;30(10):5-8).

Kochetov A.V., Glagoleva A.Y., Strygina K.V., Khlestkina E.K., Gerasimova S.V., Ibragimova S.M. et al. Differential expression of NBS-LRR-encoding genes in the root transcriptomes of two *Solanum phureja* genotypes with contrasting resistance to *Globodera rostochiensis*. *BMC Plant Biology*. 2017;17 Suppl 2:251. DOI: 10.1186/s12870-017-1193-1

Kostina L.I., Kosareva O.S. Genealogy of domestic potato varieties. (Genealogiya otechestvennykh sortov kartofelya). St. Petersburg: VIR; 2017. [in Russian] (Костина Л.И., Косарева О.С. Генеалогия отечественных сортов картофеля. Санкт-Петербург: ВИР; 2017).

Lekhnovich V.S. Cultivated potato species (Kulturnye vidy kartofelya). In: P.M. Zhukovsky, S.M. Bukasov (eds). *Flora of Cultivated Plants. Vol. 9. Potato.* Leningrad: Kolos; 1971. p.41-304. [in Russian] (Лехнович В.С. Культурные виды картофеля. В кн.: *Культурная Флора СССР. Т. 9. Картофель* / под ред. В.С. Жуковского, С.М. Букасова. Ленинград: Колос; 1971. С.41-304).

Leisner C.P., Hamilton J.P., Crisovan E., Manrique-Carpintero N.C., Marand A.P., Newton L. et al., Genome sequence of M6, a diploid inbred clone of the high-glycoalkaloid-producing tuber-bearing potato species *Solanum chacoense*, reveals residual heterozygosity. *The Plant Journal.* 2018;94(3):562-570. DOI: 10.1111/tpj.13857

Li Y., Colleoni C., Zhang J., Liang Q., Hu Y., Ruess H. et al. Genomic analyses yield markers for identifying agronomically important genes in potato. *Molecular Plant*. 2018;11(3):473-484. DOI: 10.1016/j.molp.2018.01.009

Monteros-Altamirano A., Buitrón-Bustamante J., Orbe-Vergara K., Cuesta-Subía X. Ecuadorian potato landraces: traditional names and genetic identity. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 2017;40(4):481-489.

Morante M.C. Potato production system in the Andean region of Bolivia: Modern seed potato production, the use of agricultural technology, and genetic erosion. *Research and Reviews: Journal of Agriculture and Allied Sciences*. 2019;8(1):86-95.

Ochoa C.M. The potatoes of South America: Peru, Part 1. The wild species. Lima, Peru: CIP; 2004.

Ovchinnikova A., Krylova E., Gavrilenko T., Smekalova T., Zhuk M., Knapp S., Spooner D. Taxonomy of cultivated potatoes (*Solanum* section *Petota*: Solanaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2011;165(2):107-155. DOI: 10.1111/j.1095-8339.2010.01107.x

Ross H. Potato breeding: Problems and perspectives. *Journal of Plant Breeding*. 1986; Suppl 13:132.

Spooner D.M., Ghislain M., Simon R., Jansky S.H., Gavrilenko T. Systematics, diversity, genetics, and evolution of wild and cultivated potatoes. *The Botanical Review*. 2014;80(4):283-383. DOI: 10.1007/s12229-014-9146-y

Spooner D.M., McLean K., Ramsay G., Waugh R., Bryan G.J. A single domestication for potato based on multilocus amplified fragment length polymorphism genotyping. *PNAS*. 2005;102(41):14694-14699. DOI: 10.1073/pnas.0507400102

Vavilov N.I. Botanical and geographical principles of breeding (Botaniko-geograficheskiye osnovy selektsii). In: *Theoretical Principles of Plant Breeding. Vol. 1* (*Teoreticheskiye osnovy selektsii. T. 1*). Moscow; Leningrad; 1935. [in Russian] (Вавилов Н.И. Ботанико-географические основы селекции. В кн.: *Теоретические основы селекции растений. Т.1.* Москва; Ленинград; 1935).

Vincent H., Wiersema J., Kell S., Fielder H., Dobbie S., Castañeda-Álvarez N.P. et al. A prioritized crop wild relative inventory to help underpin global food security. *Biological Conservation*. 2013;167:265-275. DOI: 10.1016/j.biocon.2013.08.011

Wambugu P.W., Ndjiondjop M.N., Henry R.J. Role of genomics in promoting the utilization of plant genetic resources in genebanks. *Briefings in Functional Genomics*. 2018;17(3):198-206. DOI: 10.1093/bfgp/ely014

Xu X., Pan S., Cheng S., Zhang B., Mu D., Ni P. et al. Genome sequence and analysis of the tuber crop potato. *Nature*. 2011;475(7355):189-195. DOI: 10.1038/nature10158

Zykin A.G. The potato of Bolivia. *Bulletin of Applied Botany, Genetics and Plant Breeding*. 1973;50(3):241-267. [in Russian] (Зыкин А.Г. Картофели Боливии. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*.1973;50(3):241-267).

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

Рогозина Е.В., Гурина А.А. Состав коллекции примитивных культурных видов секции *Petota* Dumort. рода *Solanum* L. и актуальные направления их исследования. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(3):190-202. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-190-202

Rogozina E.V., Gurina A.A. Composition of the collection of primitive cultivated species within the *Solanum* L. section *Petota* Dumort. and contemporary trends in their research. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(3):190-202. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-190-202

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/10.30901/2227-8834-2020-3-190-202

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
Rogozina E.V. http://orcid.org/0000-0002-2743-068x
Gurina A.A. http://orcid.org/0000-0002-1791-3063

Научное издание:

ТРУДЫ ПО ПРИКЛАДНОЙ БОТАНИКЕ,
ГЕНЕТИКЕ И СЕЛЕКЦИИ, ТОМ 181, ВЫПУСК 3

Научный редактор: *Е. А. Соколова*
Корректор: *А. Г. Крылов*
Компьютерная верстка: *А. В. Иванов*

Подписано в печать 02.10.2020. Формат бумаги 70×100 $^{1}/_{8}$

Бумага офсетная. Печать офсетная

Печ. л. 25,5. Тираж 300 экз. Зак. 0210/20

Сектор редакционно-издательской деятельности ВИР

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

ООО «Р–ПРИНТ»

Санкт-Петербург, пер. Гривцова, 6Б