

Научный рецензируемый журнал

ВАВИЛОВСКИЙ ЖУРНАЛ ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ

Основан в 1997 г.

Периодичность 8 выпусков в год

Учредители

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»

Межрегиональная общественная организация Вавиловское общество генетиков и селекционеров

Сибирское отделение Российской академии наук

Главный редактор

В.К. Шумный – академик РАН, д-р биол. наук, профессор (Россия)

Заместители главного редактора

Н.А. Колчанов – академик РАН, д-р биол. наук, профессор (Россия)

Н.Б. Рубцов – д-р биол. наук, профессор (Россия)

Е.К. Хлесткина – д-р биол. наук, профессор (Россия)

Ответственный секретарь

Г.В. Орлова – канд. биол. наук (Россия)

Редакционный совет

В.С. Баранов – чл.-кор. РАН, д-р мед. наук (Россия)
Л.А. Беспалова – академик РАН, д-р с.-х. наук (Россия)
А. Бёрнер – д-р наук (Германия)
В.М. Говорун – академик РАН, д-р биол. наук (Россия)
И. Гроссе – д-р наук, проф. (Германия)
Г.Л. Дианов – д-р биол. наук, проф. (Великобритания)
Ю.Е. Дуброва – д-р биол. наук, проф. (Великобритания)
И.К. Захаров – д-р биол. наук, проф. (Россия)
И.А. Захаров-Гезехус – чл.-кор. РАН, д-р биол. наук (Россия)
С.Г. Инге-Вечтомов – академик РАН, д-р биол. наук (Россия)
И.Е. Керкис – д-р наук (Бразилия)
А.В. Кильчевский – чл.-кор. НАНБ, д-р биол. наук (Беларусь)
С.В. Костров – чл.-кор. РАН, д-р хим. наук (Россия)
Ж. Ле Гуи – д-р наук (Франция)
Б. Люгтенберг – д-р наук, проф. (Нидерланды)
В.И. Молодин – академик РАН, д-р ист. наук (Россия)
В.П. Пузырев – академик РАН, д-р мед. наук (Россия)
А.Ю. Ржецкий – канд. биол. наук, проф. (США)
И.Б. Рогозин – канд. биол. наук (США)
А.О. Рувинский – д-р биол. наук, проф. (Австралия)
К.Г. Скрябин – академик РАН, д-р биол. наук (Россия)
К.В. Славин – д-р наук, проф. (США)
И.А. Тихонович – академик РАН, д-р биол. наук (Россия)
Л.В. Хотылева – академик НАНБ, д-р биол. наук (Беларусь)
Э.К. Хуснутдинова – д-р биол. наук, проф. (Россия)
М.Ф. Чернов – д-р мед. наук (Япония)
С.В. Шестаков – академик РАН, д-р биол. наук (Россия)
Н.К. Янковский – академик РАН, д-р биол. наук (Россия)

Редакционная коллегия

Т.Г. Амстиславская – д-р биол. наук (Россия)
Е.Е. Андронов – канд. биол. наук (Россия)
Ю.С. Аульченко – д-р биол. наук (Россия)
Д.А. Афонников – канд. биол. наук, доцент (Россия)
Л.И. Афтанас – академик РАН, д-р мед. наук (Россия)
Е.В. Березиков – канд. биол. наук, проф. (Россия, Нидерланды)
С.А. Боринская – д-р биол. наук (Россия)
П.М. Бородин – д-р биол. наук, проф. (Россия)
М.И. Воевода – академик РАН, д-р мед. наук (Россия)
Т.А. Гавриленко – д-р биол. наук (Россия)
В.Н. Даниленко – д-р биол. наук, проф. (Россия)
С.А. Демаков – д-р биол. наук (Россия)
Е.А. Долгих – д-р биол. наук (Россия)
Н.Н. Дыгало – чл.-кор. РАН, д-р биол. наук (Россия)
С.Л. Киселев – д-р биол. наук, проф. (Россия)
В.А. Козлов – академик РАН, д-р мед. наук (Россия)
Ю.М. Константинов – д-р биол. наук, проф. (Россия)
А.В. Кочетов – чл.-кор. РАН, д-р биол. наук (Россия)
О. Кребс – д-р биол. наук, проф. (Германия)
И.Н. Лаврик – канд. хим. наук (Германия)
Л.А. Лутова – д-р биол. наук, проф. (Россия)
В.Ю. Макеев – чл.-кор. РАН, д-р физ.-мат. наук (Россия)
М.П. Мошкин – д-р биол. наук, проф. (Россия)
Н.А. Проворов – д-р биол. наук, проф. (Россия)
Д.В. Пышный – чл.-кор. РАН, д-р хим. наук (Россия)
А.В. Ратушный – канд. биол. наук (США)
Е.А. Салина – д-р биол. наук, проф. (Россия)
М.Г. Самсонова – д-р биол. наук (Россия)
В.А. Степанов – чл.-кор. РАН, д-р биол. наук (Россия)

Scientific Peer Reviewed Journal

VAVILOV JOURNAL OF GENETICS AND BREEDING

Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii

Founded in 1997

Published 8 times annually

Founders

Federal State Budget Scientific Institution "The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences"

The Vavilov Society of Geneticists and Breeders

Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences

Editor-in-Chief

V.K. Shumny, Full Member of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Biology), Russia

Deputy Editor-in-Chief

N.A. Kolchanov, Full Member of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Biology), Russia

N.B. Rubtsov, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia

E.K. Khlestkina, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia

Executive Secretary

G.V. Orlova, Cand. Sci. (Biology), Russia

Editorial council

V.S. Baranov, Corr. Member of the RAS, Dr. Sci. (Medicine), Russia

L.A. Beshpalova, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Agricul.), Russia

A. Börner, Dr. Sci., Germany

M.F. Chernov, Dr. Sci. (Medicine), Japan

G.L. Dianov, Professor, Dr. Sci. (Biology), Great Britain

Yu.E. Dubrova, Professor, Dr. Sci. (Biology), Great Britain

V.M. Govorun, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia

J. Le Gouis, Dr. Sci., France

I. Grosse, Professor, Dr. Sci., Germany

S.G. Inge-Vechtomov, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia

I.E. Kerkis, Dr. Sci., Brazil

L.V. Khotyleva, Full Member of the NAS of Belarus, Dr. Sci. (Biology), Belarus

E.K. Khusnutdinova, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia

A.V. Kilchevsky, Corr. Member of the NAS of Belarus, Dr. Sci. (Biology), Belarus

S.V. Kostrov, Corr. Member of the RAS, Dr. Sci. (Chemistry), Russia

B. Lugtenberg, Professor, Dr. Sci., Netherlands

V.I. Molodin, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (History), Russia

V.P. Puzyrev, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Medicine), Russia

I.B. Rogozin, Cand. Sci. (Biology), United States

A.O. Ruvinsky, Professor, Dr. Sci. (Biology), Australia

A.Yu. Rzhetsky, Professor, Cand. Sci. (Biology), United States

S.V. Shestakov, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia

K.G. Skryabin, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia

K.V. Slavin, Professor, Dr. Sci., United States

I.A. Tikhonovich, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia

N.K. Yankovsky, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia

I.K. Zakharov, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia

I.A. Zakharov-Gezekhus, Corr. Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia

Editorial board

D.A. Afonnikov, Associate Professor, Cand. Sci. (Biology), Russia

L.I. Aftanas, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Medicine), Russia

T.G. Amstislavskaya, Dr. Sci. (Biology), Russia

E.E. Andronov, Cand. Sci. (Biology), Russia

Yu.S. Aulchenko, Dr. Sci. (Biology), Russia

E.V. Berezikov, Professor, Cand. Sci. (Biology), Russia, Netherlands

S.A. Borinskaya, Dr. Sci. (Biology), Russia

P.M. Borodin, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia

V.N. Danilenko, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia

S.A. Demakov, Dr. Sci. (Biology), Russia

E.A. Dolgikh, Dr. Sci. (Biology), Russia

N.N. Dygalo, Corr. Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia

T.A. Gavrilenko, Dr. Sci. (Biology), Russia

S.L. Kiselev, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia

A.V. Kochetov, Corr. Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia

Yu.M. Konstantinov, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia

V.A. Kozlov, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Medicine), Russia

O. Krebs, Professor, Dr. Sci. (Biology), Germany

I.N. Lavrik, Cand. Sci. (Chemistry), Germany

L.A. Lutova, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia

V.Yu. Makeev, Corr. Member of the RAS, Dr. Sci. (Physics and Mathem.), Russia

M.P. Moshkin, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia

N.A. Provorov, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia

D.V. Pyshnyi, Corr. Member of the RAS, Dr. Sci. (Chemistry), Russia

A.V. Ratushny, Cand. Sci. (Biology), United States

E.A. Salina, Professor, Dr. Sci. (Biology), Russia

M.G. Samsonova, Dr. Sci. (Biology), Russia

V.A. Stepanov, Corr. Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology), Russia

M.I. Voevoda, Full Member of the RAS, Dr. Sci. (Medicine), Russia

295

ОТ РЕДАКТОРА

Генетические ресурсы растений

296

ОБЗОР

Генетические ресурсы риса (*Oryza sativa* L.) с окрашенным перикарпом зерна
О.В. Зеленская, Г.Л. Зеленский, Н.В. Остапенко, Н.Г. Туманьян

304

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Изучение форм ярового тритикале в лесостепи Западной Сибири при разных условиях летней вегетации
А.Ф. Чешкова, П.И. Стёпочкин, А.Ф. Алейников, И.Г. Гребенникова, Д.И. Чанышев

310

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Пластичность образа жизни у группы озимых образцов пшеницы и тритикале
В.Е. Козлов, В.И. Пономаренко, Е.П. Размахнин

316

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Морфогенетический потенциал сортов картофеля сибирской селекции в культуре *in vitro*
С.М. Ибрагимова, А.В. Романова, Г.Х. Мызгина, А.В. Кочетов

Генетика и селекция растений

321

ОБЗОР

Влияние чужеродного генетического материала на проявление хозяйственно важных признаков мягкой пшеницы (*T. aestivum* L.)
И.Н. Леонова

329

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Идентификация гена устойчивости к бурой ржавчине *Lr34* в сортах и коллекционных образцах озимой мягкой пшеницы Аграрного научного центра «Донской»
Н.Н. Вожжова

333

ОБЗОР

Гены, контролирующие синтез флавоноидных и меланиновых пигментов ячменя
О.Ю. Шоева, К.В. Стрыгина, Е.К. Хлесткина

343

ОБЗОР

Селекция на содержание антиоксидантов в зерне как перспективное направление для получения продуктов здорового питания
В.И. Полонский, И.Г. Лоскутов, А.В. Сумина

353

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Биохимический состав и технологическая оценка зерна интрогрессивных форм озимой мягкой пшеницы с участием различных видов *Triticum* и *Aegilops*
А.И. Абузалиева, Т.В. Савин

Популяционная генетика

363

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Структура популяций листовых патогенов яровой пшеницы в западноазиатских регионах России и Северном Казахстане в 2017 г.
Е.И. Гульяева, Н.М. Коваленко, В.П. Шаманин, В.А. Тюнин, Е.Р. Шрейдер, Е.Л. Шайдаюк, А.И. Моргунов

370

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Алкалогалофильные бактерии семейства *Bacillaceae* в озерах пустыни Бадаин Жаран (Китай)
Е.Б. Эрдынеева, А.А. Раднагуруева, Н.Л. Белькова, З.Б. Намсараев, Е.В. Лаврентьева

379

ОБЗОР

Изменчивость расового состава заразики подсолнечниковой (*Orobancha cymata* Wallr.) и новые стратегии защиты от паразита
С.Г. Хаблак, Я.А. Абдуллаева, Я.С. Рябовол

Биоресурсные коллекции

386

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Информационная система по биоресурсным коллекциям институтов ФАНО России
С.А. Лашин, Д.А. Афонников, М.А. Генаев, Ф.В. Казанцев, Е.Г. Комышев, Е.А. Ощепкова, А.В. Петров, Д.А. Рассказов, А.А. Смирнова, Н.А. Колчанов

295

FROM THE EDITOR

Plant genetics resources

296

REVIEW

Genetic resources of rice (*Oryza sativa* L.) with colored pericarp

O.V. Zelenskaya, G.L. Zelensky, N.V. Ostapenko, N.G. Tumanyan

304

ORIGINAL ARTICLE

A comparative study of spring triticale varieties in the Western Siberian forest-steppe zone under different conditions of vegetation

A. Cheshkova, P. Stepochkin, A. Aleynikov, I. Grebennikova, D. Chanyshv

310

ORIGINAL ARTICLE

Seasonal life history plasticity of the group of winter wheat and triticale accessions

V.E. Kozlov, V.I. Ponomarenko, E.P. Razmakhnin

316

ORIGINAL ARTICLE

The morphogenic potential of Siberian potato cultivars in tissue cultures

S.M. Ibragimova, A.V. Romanova, G.Kh. Myzgina, A.V. Kochetov

Plant genetics and breeding

321

REVIEW

Influence of alien genetic material on the manifestation of agronomically important traits of common wheat (*T. aestivum* L.)

I.N. Leonova

329

ORIGINAL ARTICLE

Identification of the *Lr34* gene for resistance to leaf rust in varieties and collection samples of winter soft wheat from the Agricultural Research Center "Donskoy"

N.N. Vozhzhova

333

REVIEW

Genes determining the synthesis of flavonoid and melanin pigments in barley

O.Yu. Shoeva, K.V. Strygina, E.K. Khlestkina

343

REVIEW

Breeding for antioxidant content in grain as a promising trend in obtaining healthy food products

V.I. Polonskiy, I.G. Loskutov, A.V. Sumina

353

ORIGINAL ARTICLE

The wheat introgressive form evaluation by grain biochemical and technological properties

A.I. Abugaliyeva, T.V. Savin

Population genetics

363

ORIGINAL ARTICLE

Population structure of leaf pathogens of common spring wheat in the West Asian regions of Russia and Northern Kazakhstan in 2017

E.I. Gulyaeva, N.M. Kovalenko, V.P. Shamanin, V.A. Tyunin, E.R. Shreyder, E.L. Shaydayuk, A.I. Morgunov

370

ORIGINAL ARTICLE

Alkalohalophilic bacteria of the family Bacillaceae in the lakes of the Badain Jaran desert (China)

E.B. Erdyneeva, A.A. Radnagurueva, N.L. Belkova, Z.B. Namsaraev, E.V. Lavrentieva

379

REVIEW

Variability of racial composition of sunflower broomrape (*Orobancha cumana* Wallr.) and new strategies for protection from the parasite

S.G. Hablak, Y.A. Abdullaeva, I.S. Riabovol

Bioresource collections

386

ORIGINAL ARTICLE

An integrated information system on bioresource collections of the FASO of Russia

S.A. Lashin, D.A. Afonnikov, M.A. Genaev, F.V. Kazantsev, E.G. Komyshev, E.A. Oschepkova, A.V. Petrov, D.A. Rasskazov, A.A. Smirnova, N.A. Kolchanov

Уважаемые читатели!
Текущий выпуск журнала включает статьи, посвященные исследованиям в области генетики и селекции культурных растений, популяционной генетики и созданию информационного портала.

Открывает журнал раздел «Генетические ресурсы растений». В обзоре по генетическим ресурсам риса анализируются литературные данные по содержанию фенольных кислот, флавоноидов, антоциановых соединений и других антиоксидантов в сортах и образцах риса с различной окраской перикарпа зерна. Приведены сведения о генетическом контроле окраски и основных достижениях в области селекции риса с окрашенной зерновкой. Следующие две статьи посвящены изучению пластичности и адаптивности озимых и яровых форм пшеницы и тритикале в условиях лесостепной зоны Западной Сибири. В результате проведенных исследований удалось оптимизировать сроки посева для повышения зерновой продуктивности и определить признаки, на которые наибольшее влияние оказывают генотипические особенности сорта. В работе по морфогенетическому потенциалу сортов картофеля сибирской селекции представлены новые результаты по оптимизации условий культивирования сортов *in vitro* и индукции регенерационной способности, что позволяет рекомендовать сорта для проведения генно-инженерных работ.

Первый обзор раздела «Генетика и селекция растений» посвящен эффектам, которые наблюдаются при интрогрессии генов резистентности от дикорастущих и культурных родичей в геном мягкой пшеницы. Обсуждаются перспективы применения современных биотехнологических подходов для переноса чужеродных генов и создания устойчивых к болезням сортов. Эта тематика продолжена в исследовании, связанном с созданием резистентных к грибным патогенам сортов мягкой пшеницы и идентификацией

генов с помощью молекулярных методов. Приводятся результаты детекции гена *Lr34*, снижающего восприимчивость к бурой ржавчине, у озимых сортов российской селекции. Выявлены различные аллельные состояния гена и определены сорта, которые рекомендованы к использованию в селекционных программах. В двух других обзорных статьях рассматриваются генетические и селекционные проблемы окраски зерна у ячменя и овса и роль пигментированных соединений в поддержании здоровья человека. Авторами первой работы проведен детальный анализ исследований молекулярно-генетических основ формирования полифенольных и меланиновых пигментов у ячменя. Во втором обзоре акцент сделан на создании сортов с повышенным содержанием пигментированных соединений и их использовании для профилактики заболеваний. В публикации казахских исследователей представлены результаты оценки линий мягкой пшеницы с интрогрессиями от дикорастущих видов по содержанию белка в зерне и хлебопекарным качествам.

В рубрику «Популяционная генетика» вошли два оригинальных исследования и обзорная статья. Большой интерес вызывает работа по изучению структуры популяций патогенов, являющихся возбудителем листостебельных инфекций пшеницы во многих регионах мира. Показана высокая степень сходства структуры популяций патогенов бурой ржавчины и желтой пятнистости в западно-азиатских областях Российской Федерации и Северном Казахстане, что указывает на единую эпидемиологическую зону и свидетельствует о возможном генном потоке между изученными популяциями. Еще одна публикация посвящена изучению микробного сообщества в содово-соленых озерах, расположенных в пустыне Бадаин Жаран на территории Китая. Приведенные результаты расширяют представления о разнообразии и экологическом значении бактерий в экстремальных природных экосистемах. Завершает рубрику обзор литературных данных по исследованию паразитического растения – заразики подсолнечниковой, поражающей корневую систему растения-хозяина. Рассмотрены генетические и селекционные аспекты расового состава и вредоносности заразики и методы борьбы с этим растением-паразитом.

Вошедшая в последний раздел статья знакомит читателя с проблемами создания и принципами работы информационной системы, интегрирующей большое число баз данных биоресурсных коллекций ФАНО России.

Мы рады сообщить, что теперь всем статьям, принятым к публикации в нашем электронном ресурсе «Письма в Вавиловский журнал» (<http://pismavavilov.ru>) после 1 мая 2018 года, будет присвоен индекс DOI.

Академик В.К. Шумный

Генетические ресурсы риса (*Oryza sativa* L.) с окрашенным перикарпом зерна

О.В. Зеленская¹, Г.А. Зеленский^{1, 2}✉, Н.В. Остапенко², Н.Г. Туманьян²

¹ Кубанский государственный аграрный университет им. И.Т. Трубилина, Краснодар, Россия

² Всероссийский научно-исследовательский институт риса, Краснодар, Россия

Рис посевной (*Oryza sativa* L.) обеспечивает питание более половины населения Земли. Традиционно он считается азиатской культурой, но возделывается также в Африке, Америке, Австралии и Южной Европе. Основные площади посева риса в странах мира занимают белозерные сорта. Дикорастущие предки культурного риса имели окрашенный перикарп зерна. В странах традиционного рисоводства наряду с белозерными сортами выращивают краснозерный и чернозерный рис для использования в качестве диетического и лечебного продукта. Его употребляют в пищу без предварительного шлифования крупы, поэтому сохраняются все питательные и биологически активные вещества, которыми ценится эта культура. Рис с окрашенным перикарпом зерна обладает более высокой антиоксидантной активностью, чем белозерный. В обзоре представлены данные о содержании в сортах краснозерного и чернозерного риса антиоксидантных соединений: фенольных кислот, флавоноидов, γ-оризанола, антоцианов, проантоцианидинов и др. С учетом полезных свойств растений риса с окрашенным перикарпом зерна в ведущих рисосеющих странах Азии проводится селекционная работа по созданию современных пигментированных сортов. В европейских странах – Италии и Франции – на основе азиатских сортов созданы также краснозерные и чернозерные сорта риса с высоким содержанием фитохимических элементов. С 2001 г. селекция сортов риса с окрашенным перикарпом зерна начата в Российской Федерации. Созданы сорта риса: краснозерные – Марс и Рубин (2012 г.) и чернозерный глютинозный – Южная ночь (2014 г.), которые включены в Государственный реестр охраняемых селекционных достижений. У этих сортов выявлено большое количество олеиновой и линоленовой кислот (до 43 % каждой), тогда как у белозерного сорта риса РAPAN обнаружены только их следы. Установлены значительные отличия по содержанию антиоксидантов: РAPAN – 7, Марс и Рубин – по 45, Южная ночь – 105 мг/100 г продукта. Эти сорта внедрены в производство и используются для диетического питания и в качестве исходного материала для создания новых эксклюзивных сортов риса.

Ключевые слова: краснозерный рис; чернозерный рис; сорта риса; гибридизация; селекция; антиоксиданты; антоцианы; проантоцианидины; пищевая ценность.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Зеленская О.В., Зеленский Г.А., Остапенко Н.В., Туманьян Н.Г. Генетические ресурсы риса (*Oryza sativa* L.) с окрашенным перикарпом зерна. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(3):296-303. DOI 10.18699/VJ18.363

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Zelenskaya O.V., Zelensky G.A., Ostapenko N.V., Tumanyan N.G. Genetic resources of rice (*Oryza sativa* L.) with colored pericarp. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018; 22(3):296-303. DOI 10.18699/VJ18.363 (in Russian)

УДК 633.181: 57.082.263

Поступила в редакцию 08.05.2017

Принята к публикации 19.02.2018

© АВТОРЫ, 2018

Genetic resources of rice (*Oryza sativa* L.) with colored pericarp

O.V. Zelenskaya¹, G.A. Zelensky^{1, 2}✉, N.V. Ostapenko², N.G. Tumanyan²

¹ Kuban State Agrarian University named after I.T. Trubilin, Krasnodar, Russia

² All-Russian Rice Research Institute, Krasnodar, Russia

The rice plant (*Oryza sativa* L.) provides nutrition for more than half the world's population. Traditionally it is considered an Asian crop, but it is also cultivated in Africa, America, Australia and Southern Europe. The main areas of rice growing in the world are occupied with the white-grained varieties. Wild-growing ancestors of cultural rice had a colored grain pericarp. In the countries of traditional rice growing, along with white-grained varieties, red and black grain rice varieties are grown as a dietary and therapeutic product. It is used for food without preliminary grinding of the grains, therefore all nutrients and biologically active substances this culture is valued for are preserved. Rice with the colored grain pericarp has a higher antioxidant activity than white-grained. The review presents data on the content of antioxidant compounds in the varieties of the red- and black-grained rice: phenolic acids, flavonoids, γ-oryzanol, anthocyanins, proanthocyanidins, etc. Aiming at these useful properties of rice plants with a colored grain pericarp, the leading rice-growing countries work on breeding of the modern pigmented rice varieties. In European countries, Italy and France, the red and black grain varieties of rice with a high content of phytochemical elements have also been bred based on Asian varieties. Breeding of rice varieties with colored grain pericarp was started in the Russian Federation in 2001. As a result, the following rice varieties were developed: red-grained Mars and Rubin (2012), as well as the black-grained glutinous variety Yuzhnaya Noch (2014), which are included in the RF State Register of Protected Breeding Achievements. These varieties have been revealed to contain a large amount of oleic and linolenic acids (up to 43 % each), whereas only their traces are found in the white-grained rice variety RAPAN. There are significant differences in the content of antioxidants: RAPAN has 7 mg/100 g; Mars and Rubin, 45 mg/100 g; Yuzhnaya Noch, 105 mg/100 g. These varieties have been introduced into commercial production and are used for dietary nutrition and as a starting material for the creation of new exclusive varieties of rice.

Key words: red rice; black rice; rice varieties; hybridization; breeding; antioxidants; anthocyanins; proanthocyanidins; nutritional value.



e-mail: zelensky08@mail.ru

Широкое использование генофонда растений Н.И. Вавилов рассматривал как генетическую основу селекции растений. Он считал, что в селекционную работу необходимо включать все ботаническое разнообразие, известное для каждой культуры (Вавилов, 1987). Рис – одна из наиболее распространенных на земном шаре культур. Рисовая крупа является основным продуктом питания более чем 3 млрд человек. Поэтому сбор генетических ресурсов риса для использования в селекции активно ведется во всех рисосеющих странах мира.

Рис посевной (*Oryza sativa* L.) – это совокупность форм, которые возникли в результате многовекового введения в культуру дикорастущего риса, имеющего окрашенный перикарп зерновки. Вовлечение в селекционный процесс различных разновидностей риса необходимо для увеличения генетического разнообразия исходного материала. Подавляющее большинство возделываемых в мире сортов риса – белозерные. До 2008 г. в Российской Федерации выращивали только белозерные сорта риса. Согласно принятому в Российской Федерации ГОСТу (2002), содержание окрашенных зерновок в зерне риса высшего класса I и II типов допускается не более 2 %, иначе партия считается некондиционной. В странах Евросоюза принят еще более жесткий регламент для белозерных сортов риса. Еврокомиссия установила стандарт качества зерна риса (Council Regulation № 1785/2003 от 29.09.2003), согласно которому содержание красных зерен не должно превышать 1 %. Это требование введено потому, что распространение растений краснозерного риса на полях приводило к снижению качества урожая. Такой рис повсеместно уничтожался как сорняк и в качестве генетического ресурса, как правило, не рассматривался. Но, несмотря на то что селекционные исследования и возделывание риса с окрашенным зерном в западных странах были ограничены, традиционные сорта риса с пигментированной зерновкой выращивали и употребляли как здоровую пищу в азиатских странах (Китай, Япония, Индия, Шри-Ланка, Филиппины и др.). Например, в Бутане 30 % площади посева риса занимают сорта с окрашенным перикарпом зерна (Ahuja et al., 2007). Жители Шри-Ланка с давних пор считали, что традиционные сорта риса (в основном краснозерные) обладают превосходными питательными свойствами и имеют лечебный эффект благодаря наличию в зерне этих сортов фитохимических веществ, в основном фенольных соединений (Gunaratne et al., 2013).

В Ираке, Индии, Китае, Таиланде, Мексике, Пакистане, Узбекистане и на Филиппинах сорта с окрашенным перикарпом зерна используют для приготовления экзотических блюд. Широкую известность в мире получила, например, каша из черного глютинозного риса, имеющая темно-пурпурный цвет и специфический запах (Rice recipes..., 2005). В ряде азиатских стран (Вьетнам, Мьянма и др.) и странах Западной Африки глютинозный рис с окрашенным перикарпом зерна используют в церемониальных и религиозных ритуалах (Ahuja et al., 2007; Rice Almanac, 2013).

Чернозерный рис известен в мире как «запрещенный», или императорский. Его употребляла в пищу в Китае только семья императора, считалось, что этот рис увеличивает продолжительность жизни (Zhang et al., 2015; Kushwaha,

2016). Обычным людям не позволялось использовать чернозерный рис. В настоящее время он широко доступен потребителям в разных частях мира, несмотря на то, что его происхождение не до конца изучено (Oikawa et al., 2015). Этот рис отличается высокой антиоксидантной активностью из-за присутствия в перикарпе пигмента антоциана, фенольных кислот, витамина Е, фитиновой кислоты (Kong, Lee, 2010; Zhang et al., 2010).

Рис с черной или пурпурной окраской перикарпа предотвращает развитие диабета и атеросклероза, он обладает противовоспалительным и противоотечным действием, снижает риск сердечных приступов, аллергии и ожирения, уменьшает рост раковых опухолей, улучшает работу пищеварительной системы. Кроме того, он способствует удалению из организма свободных радикалов. Это имеет важное значение как фактор защиты организма от канцерогенов (Pereira-Caro et al., 2013b; Bordiga et al., 2014; Kushwaha, 2016).

Окраска зерновки риса обусловлена наличием и различным соотношением пигментов, содержащихся в перикарпе, семенной оболочке и алейроновом слое (Dong et al., 2008; Chen et al., 2012; Maeda et al., 2014). Образцы, имеющие цветной эндосперм, в генетических ресурсах риса до недавнего времени не были известны. Однако китайскими учеными предприняты попытки получить рис с фиолетовым эндоспермом при помощи методов генной инженерии путем введения в растения риса восьми генов (два регуляторных гена из кукурузы и шесть структурных – из колеуса) с эндосперм-специфичными промоторами. В результате был получен новый образец риса Purple Endosperm Rice с высокой антиоксидантной активностью благодаря содержанию антоцианов в эндосперме (Zhu et al., 2017). Все остальные известные в мире пигментированные сорта и селекционные образцы риса имеют окрашенный перикарп зерна, который обычно удаляется в процессе шлифования зерна риса при обработке в крупу, но именно нешлифованный рис востребован потребителями из-за его ценных целебных свойств.

Установлено, что окраска перикарпа зерновки риса контролируется доминантными генами: *Prp* – Purple pericarp, *Rc* – Brown pericarp, *Rd* – Red pericarp. Рецессивные аллели *prp*, *rcp* и *rdp*, а также гены-ингибиторы доминантных генов, подавляющие окрашивание перикарпа, обуславливают белую окраску зерна (Sweeney et al., 2006). Известно, что гены *Rc* и *Rd* локализованы в хромосомах 7 и 1 соответственно; при этом *Rd* является структурным геном, кодирующим фермент DFR, необходимый для синтеза проантоцианидинов и антоцианов, а *Rc* кодирует транскрипционный MYC-подобный фактор с доменом bHLH, необходимый для активации структурных генов (Furukawa et al., 2007; Dong et al., 2008).

Согласно данным классической генетики, черная окраска перикарпа контролируется двумя комплементарными доминантными генами: Purple pericarp B (*Pb*), локализованным в хромосоме 4, и Purple pericarp A (*Pp*), локализованным в хромосоме 1 (Rahman et al., 2013). Было высказано предположение о наличии еще одного гена (*P*), контролирующего черную окраску перикарпа зерна риса и локализованного в хромосоме 3 (Maeda et al., 2014). Ген *Pb* (синоним *Ra*) риса был картирован и клонирован.

Установлено, что он кодирует транскрипционный MYC-подобный фактор с доменом bHLH, необходимый для активации биосинтеза антоцианов (Hu et al., 1996; Wang, Shu, 2007). Локус *A*, как выяснилось, идентичен локусу *Rd* и кодирует фермент DFR (Furukawa et al., 2007). Ген *P* в хромосоме 3 кодирует MYB-подобный транскрипционный фактор, который, взаимодействуя с *Pb*, образует комплекс, активирующий гены биосинтеза антоцианов в зерновке риса (Maeda et al., 2014).

Пигментированный рис, как известно, обладает более высокой антиоксидантной активностью, чем белозерный. Исследование антиоксидантного потенциала, содержания фенольных соединений, антоцианов, α -токоферола и γ -оризанола в зерне риса с окрашенным перикарпом зерна в сравнении с белозерным рисом показало, что экстракты окрашенного риса отличаются повышенной антиоксидантной активностью. Среди антиоксидантных соединений красной зерновки риса были выявлены фенольные кислоты (преобладала феруловая кислота), флавоноиды, производные витамина Е, γ -оризанол и проантоцианидины (Goufo, Trindade, 2014; Shao et al., 2015). Кроме того, черной зерновкой риса содержатся антоцианы, обуславливающие окраску перикарпа зерна. По сравнению с красной зерновкой риса у него обнаружено повышенное содержание галловой, гидроксибензойной и протокатехиновой кислот (Laokuldilok et al., 2011; Chen et al., 2012).

При анализе красной зерновки риса азиатского происхождения подтверждено наличие в них феруловой, сиринговой и п-кумаровой кислот, а также впервые обнаружена м-кумаровая кислота (Sumczynski et al., 2016). Изучение 223 сортов и сортообразцов корейского риса выявило различия в содержании в их составе октакозанолола от 0.78 до 6.06 мг/100 г, причем 90 % изученных образцов были красной зерновкой риса. 13 генотипов и селекционных образцов с окрашенным перикарпом имели высокое содержание – свыше 4 мг/100 г – октакозанолола, который является антиоксидантом, источником витамина Е и сжигателем жира (Cho et al., 2017).

Большинство селекционных программ в мире направлено на создание белозерных сортов риса. Но развивающееся в последнее время стремление населения употреблять продукты питания, снижающие риск развития различных заболеваний и способствующие долголетию, привело к новому направлению в селекции риса – созданию эксклюзивных сортов с окрашенным перикарпом зерна. В скрещиваниях были вовлечены известные красной зерновкой риса и черной зерновкой риса традиционные азиатские сорта риса, и теперь многие рисосеющие страны, в том числе европейские, возделывают сорта с окрашенным перикарпом зерна местной селекции (Angelini et al., 2008; Bordiga et al., 2014).

При создании исходного материала для выведения сортов риса с пигментированной зерновкой было необходимо решить ряд проблем. Как известно, большинство красной зерновкой риса склонно к полеганию и осыпанию колосков (Зеленская, 2015; Ziska et al., 2015). Традиционные черной зерновкой риса имеют мелкое зерно и более низкую урожайность по сравнению с белозерными. Поэтому при создании новых сортов риса селекционеры стремились преодолеть эти недостатки, скрещивая образцы риса с окрашенным перикарпом зерна и белозерные

сорта с высокими показателями хозяйственно ценных признаков (Maeda et al., 2014; Zhang et al., 2015; Рысбекова и др., 2017).

Наиболее известны в мире сортообразцы риса с пигментированной зерновкой из Китая. Согласно литературным данным, посевы риса с окрашенным перикарпом зерна ежегодно занимают здесь около 0.4 млн га, что составляет 1.26 % общей посевной площади (Chaudhary, Tran, 2001). Посевы красной зерновкой риса в основном сосредоточены на юго-западе и востоке страны в долине реки Янцзы. В этих районах преимущественно выращивается красной зерновкой рис, относящийся к подвиду *indica*. По данным Национального банка зерновых генетических ресурсов в Пекине, из 31 663 образцов генплазмы риса Китая 7177 (20.71 %) были красной зерновкой риса. Из них 6615 образцов относились к подвиду *indica*, 8 – к подвиду *japonica*, а 554 были глютинозными (Ahuja et al., 2007).

Кроме стародавних красной зерновкой риса сортов, в Китае возделываются и новые сорта, отвечающие требованиям современного производства. Так, красной зерновкой риса сорт Hong Xiang 1, полученный в 1997 г. при скрещивании сортов IR 24 и Changxiangdao, обладает высокой урожайностью (6.75 т/га), крупным зерном и устойчивостью к пирикулярриозу (Tang, Wang, 2001). Последнее очень важно, так как большинство красной зерновкой риса образцов риса, как правило, поражается болезнями, в том числе и пирикулярриозом (Saka et al., 2007; Зеленская, 2015). Сорт Hong Xiang 1 впоследствии был использован селекционерами для получения шести инбредных линий, созданных для генетического обоснования процессов биосинтеза проантоцианидинов (Xu et al., 2017). Изучение гибридной популяции, полученной при скрещивании белозерного китайского сорта II-32В и черной зерновкой риса Yunnanheixianpu, показало расщепление по цвету перикарпа зерна: черное, светло-пурпурное и белое. В результате было отобрано 15 новых высокоурожайных линий с различным содержанием фенольных соединений и высокой антиоксидантной активностью (Zhang et al., 2015). На основе изучения содержания фитохимических веществ 14 возделываемых в Китае красной зерновкой риса сортов предложено использовать косвенный отбор по признаку общего содержания фенолов для создания новых сортов с высокой антиоксидантной активностью (Shao et al., 2015).

Востребованы китайские эксклюзивные сорта риса и в других странах. Например, сорт Jingu 96 с черной окраской перикарпа зерна выращивали в полевых условиях в Египте в 2010–2013 гг. и получили урожай в среднем 6.85 т/га. Сорт отличался хорошим качеством зерна с высоким содержанием амилозы (20.3 %) и протеина (10.48 %) (Metwally et al., 2014).

Не менее известны в мировом рисоводстве и японские сорта риса с окрашенным перикарпом зерна. Так, сорт Asamurasaki, зарегистрированный в 1996 г., получен из гибридной комбинации японского глютинозного риса и черной зерновкой риса образца Bali black rice. У этого сорта выявлено суммарно 23 метаболита, в том числе антоцианы, флавоны, флавонолы, каротиноиды и γ -оризанола. Экстракты из такого пигментированного риса используют в пищевой промышленности в качестве натурального красителя при хлебопечении и изготовлении йогуртов и

мороженого (Chen et al., 2012; Pereira-Caro et al., 2013b). Сорт Asamurasaki был взят в качестве одной из родительских форм для создания методом искусственной гибридизации нового глютинозного сорта Minenomurasaki с черной окраской перикарпа зерна. Сорт Minenomurasaki – раннеспелый, умеренно устойчив к полеганию, среднезерный с удлиненной зерновкой, более крупным зерном и высокой урожайностью по сравнению с родительской формой, среднеустойчив к листовой форме и слабоустойчив к метельчатой форме пирикулярноза и к холоду (Saka et al., 2007).

В Японии широко распространены черnozерные сорта риса Okunomurasaki и Hong Xie Nuo. В дополнение к ним четырехкратным беккроссом Hong Xie Nuo с белозерным сортом Koshihikari была создана новая изогенная линия Black rice NIL с высокой антиоксидантной активностью, превосходными вкусовыми качествами, пригодная для диетического питания (Maeda et al., 2014; Oikawa et al., 2015).

Индия является центром происхождения культуры риса, здесь распространены дикie виды риса. Поэтому в индийских коллекциях генетических ресурсов широко представлены образцы с пигментированной зерновкой. Так, в коллекции Центрального научно-исследовательского института риса (CRRI, Cuttack, штат Орисса) насчитывается 2960 образцов, 20 % из которых имеют окрашенный перикарп зерна, причем 17.4 % – краснозерные, 3.4 % – с черным зерном. Сорта краснозерного риса выращиваются во многих штатах Индии. Они устойчивы к неблагоприятным факторам среды, таким как неплодородные песчаные и засоленные почвы; засуха, глубокий слой воды, перепады высот и температуры в горных условиях. Краснозерные индийские сорта используются также в селекции как доноры устойчивости к основным вредителям и болезням (Ahuja et al., 2007).

В Корее рис с окрашенным перикарпом зерна считается компонентом здорового питания. Основные направления при селекции таких сортов – устойчивость к полеганию, высокий урожай и повышенное содержание фитохимических веществ. Антиоксидантная активность краснозерных сортов корейского риса варьировала от 12 до 96 % (Cho et al., 2017). Сорта Josenghugchal (черный перикарп) и Jegjinju (красный перикарп) содержат пигменты – антоцианы и полифенолы, а также в восемь раз больше, чем белозерные сорта риса, γ -аминомасляной кислоты. Аминомасляная кислота выполняет в организме функцию ингибирующего медиатора центральной нервной системы, снимает возбуждение и оказывает успокаивающее действие, ее можно принимать так же, как транквилизатор, но без риска развития привыкания. Поэтому данные сорта риса рекомендуют в качестве диетического питания при артериальной гипертензии. Сорта Neugjinjubyeo и Neugseolbyeo отличаются высоким содержанием флавоноидов и каротиноидов. Они могут быть использованы как исходный материал при ведении селекции на высокое содержание этих биологически активных веществ (Kim et al., 2010).

Возделываются сорта риса с окрашенным перикарпом зерна и в других азиатских странах, причем как для внутреннего, так и для внешнего рынка. Таиланд, Мьянма и Камбоджа – известные экспортеры эксклюзивных сортов

риса в западные страны. Так, в пигментированных сортах риса из Таиланда, импортируемых в Италию, отмечено более высокое содержание биологически активных соединений, чем в белозерных итальянских сортах риса. Поэтому они могут быть рекомендованы потребителям в качестве источника здорового питания (Melini, Acquistucci, 2017).

В настоящее время ситуация на европейском рынке риса меняется в сторону расширения ассортимента продуктов из зерна риса. Согласно данным Международного научно-исследовательского института риса, спрос на рынке рисовой крупы на эксклюзивные сорта риса, в том числе ароматизированные и с окрашенным перикарпом зерна, растет на 6 % в год (Rice Almanac, 2013). Это способствует развитию импорта таких сортов из азиатских стран и проведению селекционных исследований по созданию линейки эксклюзивных сортов риса как в Европе, так и в России.

В Европе рис с окрашенным перикарпом зерна возделывается в Италии и Франции. Италия – самый крупный производитель риса в Евросоюзе. В настоящее время около 90 % итальянского риса выращивают в двух регионах: Пьемонте и Ломбардии, в том числе и сорта с зерном красно-коричневого и черного цвета. Среди них наиболее известны три сорта с черной окраской перикарпа зерна – Artemide, Venere, Nerone и два краснозерных – Ermez и Russ. Сорт Ermez отобран после спонтанной гибридизации сорта Venere и белозерного длиннозерного образца, относящегося к подвиду *indica*. Длиннозерный сорт Russ – результат искусственной гибридизации (Bordiga et al., 2014).

Сорт Venere создан при скрещивании стародавнего китайского образца риса с итальянской линией Padani для получения растений риса с черным зерном, адаптированных к условиям умеренного климата. Он относится к подвиду *japonica*, среднезерный. Этот рис обладает ароматом сандалового дерева, очень питателен, богат мезо- и микроэлементами: содержание кальция – 159 мг/кг, железа – 30.9, магния – 25.5, цинка – 26.7, селена – 0.043 мг/кг крупы. В крупе эксклюзивного сорта риса Nerone, созданного методом искусственной гибридизации, в четыре раза больше железа и на 1/3 больше фосфора, чем у других сортов риса с черным зерном. Сорт Artemide – спонтанный гибрид между сортом Venere и белозерным длиннозерным образцом. Окраска перикарпа зерна этих сортов связана с содержанием пигментов антоцианов, которые обладают антиоксидантным действием и являются природным средством, препятствующим старению. Все сорта риса итальянской селекции с черной окраской перикарпа зерна содержат повышенное количество флавоноидов и антоцианов по сравнению с белозерными и даже краснозерными сортами риса (Angelini et al., 2008; Bordiga et al., 2014).

На юге Франции, в Камарге в дельте реки Роны, фермеры выращивают рис с 1870 г. на засоленных землях, поскольку ни одна другая культура в таких условиях расти не могла. В 1983 г. французский фермер R. Griotto обнаружил растения спонтанного гибрида между диким краснозерным и культурным короткозерным рисом. С этого времени селекцией краснозерного камаргского риса занялись ученые из INRA (French National Institute for Agricultural Research). В результате проведенной работы в 1988 г. был создан эксклюзивный краснозерный сорт

риса с ореховым ароматом, получивший коммерческое название Camargue Red Rice. С 1992 г. он внедрен в промышленное производство, его выращивают по безгербицидной технологии, причем 90 % урожая отправляют на экспорт (Oulton, 2005). Биохимический анализ краснозерного риса из Камарга показал высокое содержание проантоцианидинов (0.2 мг/г). На их долю приходится более 60 % вторичных метаболитов, еще 26.7 % составляют каротиноиды и γ -оризанолы, менее 9 % – флавоны и флавонолы (Pereira-Caro et al., 2013a).

Зерно сортов риса с окрашенным перикарпом тверже, чем зерно белозерных. Это значительно увеличивает время приготовления блюд, что приводит к частичному разрушению полезных для здоровья фитохимических веществ. Чтобы уменьшить потерю питательной ценности, необходимо крупу предварительно замачивать в воде на 6–8 ч (Kushwaha, 2016). Необычный цвет и вкус таких блюд, а также их несомненная польза в лечении и профилактике многих заболеваний привлекают покупателей, и такой рис пользуется постоянным спросом (Melini, Acquistucci, 2017). Кроме того, экстракты из черnozерного риса благодаря наличию в их составе антоциана перспективны для создания новых источников натуральных пигментов, которые применяются в пищевой и фармацевтической промышленности (Bordiga et al., 2014). Соответственно, рост спроса привел к увеличению импорта сортов риса с окрашенным перикарпом зерна в Европу: в 2016 г. он составил 778 тыс. т, что на 24 % выше, чем в 2013 г. (CBF, 2017).

В Российскую Федерацию рис с окрашенным перикарпом зерна до недавнего времени также импортировался. До 2012 г. не было зарегистрировано ни одного российского сорта риса с пигментированным зерном. Однако спрос на такой рис и принятый курс на импортозамещение делают актуальным выведение собственных сортов. Предварительные исследования и анализ мировой коллекции образцов риса выявили возможность создания отечественных эксклюзивных сортов с окрашенным перикарпом зерна.

Общее количество собранных в мире образцов риса составляет более 420 тыс. В Международном банке генетических ресурсов хранится около 900 тыс. образцов культурного и дикого риса (Rice Almanac, 2013). Свыше 5 тыс. из них – сорта, гибридные линии, сорно-полевые формы риса посевного (*O. sativa*) – хранятся в мировой коллекции ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова» (ВИР, Санкт-Петербург, Россия). Здесь представлены в основном белозерные амилонные разновидности, к которым относится большинство возделываемых сортов, в меньшем количестве – краснозерные амилонные и белозерные глютинозные разновидности *O. sativa*, относящиеся к подвидам *indica* и *japonica*, а также незначительное количество глютинозных краснозерных образцов подвида *indica* (Ляховкин, 2005).

Лучшие образцы риса мировой коллекции вошли в рабочую коллекцию Всероссийского научно-исследовательского института риса (ВНИИ риса, Краснодар). В настоящее время в ней насчитывается более 6.8 тыс. со-

ртообразцов 82 разновидностей двух подвигов, *indica* и *japonica*, вида *O. sativa* (Коротенко и др., 2016).

С 2001 г. в России были начаты работы по искусственной гибридизации белозерного сорта риса Курчанка и краснозерных образцов риса для создания исходного селекционного материала и изучения наследования признака окраски перикарпа зерна (Zelenskaya et al., 2001). Материалом для отбора краснозерных образцов риса послужили устойчивые к полеганию сорно-полевые формы с неосыпающимися колосками, собранные на производственных посевах белозерных сортов риса в Краснодарском крае. Некоторые из этих образцов, спонтанные гибриды, имели фенотипическое сходство с возделываемыми сортами риса и унаследовали от них ряд хозяйственно ценных признаков. Эти образцы включены в дальнейшую селекционную проработку.

После многолетнего изучения полученного материала в селекционных питомниках и проведения многократного индивидуального отбора создана коллекция разнотипных краснозерных образцов риса, изучены их морфобиологические особенности и проведена технологическая оценка качества зерна. Эти селекционные образцы относились к подвиду *japonica* и ботанической разновидности *sundensis*. Они обладали одним или несколькими хозяйственно ценными признаками (раннеспелость, крупнозерность, отличное качество зерна, высокое содержание амилозы – 28.2 %), а также отличались присущими сорно-полевым формам риса быстрыми темпами роста растений, более высокой продуктивной кустистостью и конкурентоспособностью (Зеленская, 2015). Семь полученных образцов с зерном красно-коричневого цвета в 2012 г. передано в рабочую коллекцию ВНИИ риса (№ по каталогу: 04791–04797). Они могут быть использованы для генетических исследований и в качестве исходного материала для селекции на раннеспелость, продуктивность, высокое качество зерна.

Селекционная программа по созданию отечественных эксклюзивных сортов риса с окрашенным перикарпом зерна привела к выведению трех сортов, среди которых особо выделялся краснозерный длиннозерный сорт Марс (Зеленский и др., 2012). Он получен методом индивидуального отбора спонтанного гибрида в производственном посеве длиннозерного белозерного сорта Изумруд. Марс имеет период вегетации 112–117 дней и принадлежит к группе среднеспелых сортов, относится к подвиду *indica*, ботанической разновидности *philippensis*. Зерно длинное, узкое, веретеновидное (l/b – 3.5), с высокой стекловидностью – до 97 % (рис. 1). Растения сорта Марс среднеустойчивы к пирикулярриозу, не полегают, не осыпаются даже при перестое, но обмолачиваются легко (Zelensky, 2016). Крупа Марса обладает повышенной питательной ценностью, поэтому предназначена для приготовления лечебных продуктов питания и экзотических блюд. Сорт рекомендуется для технологии переработки зерна без шлифования или с частичным шлифованием.

Создание сорта Марс стало результатом первого аналитического этапа данной селекционной программы. Вторым этапом была синтетическая селекция, при которой целенаправленно проводились простые и сложные скрещивания белозерных сортов и краснозерных форм риса



Рис. 1. Сорт риса Марс (Каталог, 2015).



Рис. 2. Сорт риса Рубин (Каталог, 2015).

с последующей тщательной проработкой полученного гибридного материала. В результате созданы краснозерный сорт Рубин (Остапенко и др., 2012) и чернозерный глютинозный сорт Южная ночь (Остапенко и др., 2014).

Рубин – среднезерный сорт, получен методом индивидуального отбора из сложной гибридной популяции ВНИИР 7407/Курчанка/ВНИИР 10016///ВНИИР 2103/ВНИИР 10007. Среднеспелый, с периодом вегетации 115–118 дней. Сорт относится к подвиду *japonica*, ботанической разновидности *subpyrocarpa* (рис. 2). Рубин среднеустойчив к пирикулярриозу, умеренно восприимчив к рисовой листовой нематодe (Зеленский и др., 2017). Крупа сорта предназначена для употребления в нешлифованном виде.

Сорт Южная ночь – короткозерный, глютинозный, с черным перикарпом зерна, создан методом индивидуального отбора из сложной гибридной популяции, полученной ступенчатой гибридизацией: Виолетта/РК 04629//Рубин/НВ-1///РК 04629/НВ-1. Сорт позднеспелый, с вегетационным периодом 128–130 дней. Относится к подвиду *japonica*, ботанической разновидности *dextrinosa* (рис. 3). Зерно мелкое, округлой формы (Зеленский и др., 2017). Крупа черной окраски, с повышенными питательными свойствами, предназначена для потребления в нешлифованном виде и приготовления диетических и экзотических блюд.

Проведенный во ВНИИ риса биохимический анализ показал, что новые эксклюзивные сорта с окрашенным перикарпом зерна по содержанию фитохимических элементов значительно отличаются от широко распространенного белозерного риса Рапан. Так, в зерне Рапана обнаружены только следы олеиновой и линолевой кислот, а в зерне сортов Марс, Рубин и Южная ночь их было по 43 % каждой. Содержание антиоксидантов у Рапана – 7, у Марса и Рубина по 45, а у Южной ночи – 105 мг/100 г продукта. Эти сорта обладают высокой питательной ценно-



Рис. 3. Сорт риса Южная ночь (Каталог, 2015).

стью: содержание протеина у сортов составило: Марс – 8; Южная ночь – 8.2; Рубин – 8.9 %, а амилозы – 18; 0 и 22 % соответственно. Кроме того, установлено, что гликемический индекс у краснозерных сортов Марс и Рубин одинаков и равен 45 у.е., у чернозерного глютинозного сорта Южная ночь – 35 у.е., а у белозерного сорта Рапан – 60 у.е. Это позволяет рекомендовать крупу сорта Южная ночь в качестве диетического продукта.

По результатам экспертной оценки ФГБУ «Государственная комиссия Российской Федерации по испытанию и охране селекционных достижений» эти три сорта риса с окрашенным перикарпом зерна в 2011–2012 гг. были внесены в Государственный реестр охраняемых селекционных достижений (Каталог..., 2015). Все три сорта внедрены в производство и выращиваются в Краснодарском крае, в 2017 г. площадь посева составила 170 га.

Впоследствии во ВНИИ риса было создано еще три сорта с окрашенным перикарпом зерна, из них один краснозерный – короткозерный сорт Рыжик и два чернозерных – длиннозерный Гагат и среднезерный Мавр (Гончарова и др., 2015).

В настоящее время сорта риса с окрашенным перикарпом зерна кубанской селекции используются также в качестве исходного материала для создания эксклюзивных сортов селекционерами Казахстана (Рысбекова и др., 2017). Включение в селекционные программы образцов с пигментированным зерном из коллекций разных стран мира способствует развитию научных исследований и получению крупы риса с повышенной питательной ценностью.

Закключение

Рис – одна из ведущих и экономически значимых культур в мире. Производство риса в 2010 г. составило 696 млн т, причем 90 % этой культуры выращивается в азиатских странах. Он служит основным источником питания более чем для половины населения Земли, в том числе для самых бедных регионов, страдающих от голода. Пятая часть всех потребляемых с продуктами калорий приходится на рисовую крупу (Rice Almanac, 2013). На современном продовольственном рынке пользуются спросом не только белозерные амилозные сорта риса, но и традиционные сорта, пригодные для диетического и лечебного питания и приготовления блюд национальной кухни. Как правило, они имеют окрашенный перикарп зерна и содержат большее, по сравнению с белозерными сортами, количество антиоксидантов, витаминов и микроэлементов.

В ведущих рисосеющих странах наряду с белозерным рисом создаются и возделываются сорта с окрашенным перикарпом зерна. Крупа такого риса употребляется в пищу в нешлифованном виде, при этом сохраняется вся его питательная ценность. Сбор генетических ресурсов риса для использования в селекции ведется в большинстве стран, возделывающих рис. При создании новых сортов с окрашенным перикарпом зерна исходным материалом служат как стародавние сорта, так и сорно-полевые формы риса с неосыпающимися колосками, обладающие рядом хозяйственно ценных признаков. В селекционной практике многих рисосеющих стран широко используются как целенаправленная искусственная гибридизация, так и отбор спонтанных гибридов между белозерными, краснозерными и чернозерными образцами риса.

Внесенные в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию, новые сорта риса с окрашенным перикарпом зерна Марс, Рубин и Южная ночь предназначены для решения важной задачи – полного импортозамещения. Эти сорта отличаются по форме, окраске и биохимическому составу зерна: амилозные краснозерные сорта – длиннозерный Марс и среднезерный Рубин, глютениозный сорт Южная ночь – с зерном черного цвета. Такой рис обладает лечебными свойствами и пригоден для изготовления детского и диетического питания. Дальнейшее развитие направления селекции сортов риса с окрашенным перикарпом зерна возможно благодаря созданному исходному материалу, который передан в коллекцию ВНИИ риса и используется в селекционном процессе.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Вавилов Н.И. Теоретические основы селекции. М.: Наука, 1987.
- Гончарова Ю.К., Бушман Н.Ю., Верещагина С.А. Сорта риса с окрашенным перикарпом. Рисоводство. 2015;1-2(26-27):9-12.
- ГОСТ 6293–90. Рис. Требования при заготовках и поставках. Введ. 1991.07.01. М.: ИПК Изд-во стандартов, 2002;6.
- Зеленская О.В. Сорные растения рисовых систем Краснодарского края. Краснодар: КубГАУ, 2015.
- Зеленский Г.Л., Зеленская О.В., Остапенко Н.В., Чалый Н.Ф., Алавердян Н.Ю. Российские краснозерные сорта риса, созданные для лечебного питания. АгроСнабФорум. 2017;6(154):58-63.
- Зеленский Г.Л., Зеленская О.В., Харитонов Е.М., Туманьян Н.Г., Лоточникова Т.Н. Патент РФ на селекционное достижение № 6525 от 31.08.2012 г. Сорт риса Марс. 31.08.2012. Государственный реестр охраняемых селекционных достижений (официальное издание). М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2017.
- Каталог сортов риса и овощебахчевых культур кубанской селекции. Краснодар: ЭДВИ, 2015.
- Коротенко Т.Л., Туманьян Н.Г., Петрухненко А.А. Биологические особенности качества зерна сортов риса отечественной и зарубежной селекции в условиях Кубани. Рисоводство. 2016; 1-2(30-31):23-33.
- Ляховкин А.Г. Рис. Мировое производство и генофонд. СПб.: Профи-Информ, 2005.
- Остапенко Н.В., Досеева О.А., Чинченко Н.Н., Лоточникова Т.Н., Караченцев В.В., Харитонов Е.М. Патент РФ на селекционное достижение № 7566 от 03.12.2014 г. Сорт риса Южная ночь. Государственный реестр охраняемых селекционных достижений (официальное издание). М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2017.
- Остапенко Н.В., Лось Г.Д., Лоточникова Т.Н., Туманьян Н.Г., Малышева Н.Н., Харитонов Е.М. Патент РФ на селекционное достижение № 6526 от 31.08.2012 г. Сорт риса Рубин. Государственный реестр охраняемых селекционных достижений (официальное издание). М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2017.
- Рысбекова А.Б., Казеев Д.Т., Усенбеков Б.Н., Мухина Ж.М., Жанбырбаев Е.А., Сартбаева И.А., Жамбакин К.Ж., Беркимбай Х.А., Батаева Д.С. Отбор предселекционного материала риса с окрашенным перикарпом на основе генотипирования по генам *Rc* и *Pb*. Генетика. 2017;53(1):43-53. DOI 10.7868/S0016675816110114.
- Ahuja U., Chaudhary N., Thakrar R. Red rices – past, present, and future. Asian Agri. Hist. 2007;11:291-304.
- Angelini R., Ferrero A., Ponti I. Il Riso. Milano: Bayer Crop Science, 2008.
- Bordiga M., Gomez-Alonso S., Locatelli M., Travaglia F., Coisson J.D., Hermosin-Gutierrez I., Arlorio M. Phenolics characterization and antioxidant activity of six different pigmented *Oryza sativa* L. cultivars grown in Piedmont (Italy). Food Res. Int. 2014;65(Part B): 282-290. DOI 10.1016/j.foodres.2014.03.007.
- CBI (Centre for the Promotion of Imports from developing countries), 2017. Available at: <https://www.cbi.eu/market-information/grains-pulses/specialty-rice-varieties/>
- Chaudhary R.C., Tran D.V. Specialty rices of the world – a prologue. Specialty Rices of the World: Breeding, Production, and Marketing. Rome: FAO, Italy; Oxford IBH Publishers, India, 2001;3-14.
- Chen X.Q., Nagao N., Itani T., Irifune K. Anti-oxidative analysis, and identification and quantification of anthocyanin pigments in different coloured rice. Food Chem. 2012;135(4):2783-2788. DOI 10.1016/j.foodchem.2012.06.098.
- Cho Y.H., Farhoudi R., Farooq M., Lee D.J. Evaluating Korean rice genotypes and landraces for octacosanol contents and antioxidant activity. Nat. Prod. Res. 2017;31(23):2778-2782. DOI 10.1080/14786419.2017.1292271.

- Dong Y.J., Xu J.L., Xiao K., Zhang Y.J., Zhang J.Z., Luo L.J., Mastuo M. Genomic regions associated with the degree of red coloration in pericarp of rice (*Oryza sativa* L.). *J. Cereal Sci.* 2008;48(2):556-560. DOI 10.1016/j.jcs.2007.11.011.
- Furukawa T., Maekawa M., Oki T., Suda I., Iida S., Shimada H., Takamura I., Kadowaki K. The Rc and Rd genes are involved in proanthocyanidin synthesis in rice pericarp. *The Plant J.* 2007;49(1):91-102. DOI 10.1111/j.1365-3113X.2006.02958.x.
- Goufo P., Trindade H. Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, γ -oryzanol, and phytic acid. *Food Sci. Nutr.* 2014;2(2):75-104. DOI 10.1002/fsn3.86.
- Gunaratne A., Wu K., Li D., Bentota A., Corke H., Cai Y. Antioxidant activity and nutritional quality of traditional red-grained rice varieties containing proanthocyanidins. *Food Chem.* 2013;138:1153-1161. DOI 10.1016/j.foodchem.2012.11.129.
- Hu J., Anderson B., Wessler R. Isolation and characterization of rice *R* genes: evidence for distinct evolutionary paths in rice and maize. *Genetics.* 1996;142:1021-1031.
- Kim J.K., Lee S.Y., Chu S.M., Lim S.H., Suh S.C., Lee Y.T., Cho H.S., Ha S.H. Variation and correlation analysis of flavonoids and carotenoids in Korean pigmented rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 2010;58(24):12804-12809. DOI 10.1021/jf103277g.
- Kong S., Lee J. Antioxidants in milling fractions of black rice cultivars. *Food Chem.* 2010;120:278-281. DOI 10.1016/j.foodchem.2009.09.089.
- Kushwaha U.K.S. Black Rice: Research, History and Development. Springer International Publishing, Switzerland. 2016. DOI 10.1007/978-3-319-30153-2.
- Laokuldilok T., Shoemaker C.F., Jongkaewwattana S., Tulyathan V.J. Antioxidants and antioxidant activity of several pigmented rice brans. *Agric. Food Chem.* 2011;59(1):193-199. DOI 10.1021/jf103649q.
- Maeda H., Yamaguchi T., Omoteno M., Takarada T., Fujita K., Murata K., Iyama Y., Kojima Y., Morikawa M., Ozaki H., Mukaino N., Kidani Y., Ebitani T. Genetic dissection of black grain rice by the development of a near isogenic line. *Breed Sci.* 2014;64(2):134-141. DOI 10.1270/jsbbs.64.134.
- Melini V., Acquistucci R. Health-promoting compounds in pigmented Thai and wild rice. *Foods.* 2017;6(1):9. DOI 10.3390/foods6010009.
- Metwally T.F., El-Habat H.B., El-Malky M.M., Barakat A.S. Comparative studies for grain yield, grain quality, cooking quality and nutritional value traits of black rice variety. *J. Plant Production, Mansoura Univ.* 2014;5(3):401-414.
- Oikawa T., Maeda H., Oguchi T., Yamaguchi T., Tanabe N., Ebana K., Yano M., Ebitani T., Izawa T. The birth of a black rice gene and its local spread by introgression. *Plant Cell.* 2015;27(9):2401-2414. DOI 10.1105/tpc.15.00310.
- Oulton R. Camargue Red Rice. CooksInfo.com. Published 2005; revised 2007. Web. Accessed 13.02.2018. Available at: <http://www.cooksinfo.com/camargue-red-rice>.
- Pereira-Caro G., Cros G., Yokota T., Crozier A. Phytochemical profiles of black, red, brown and white rice from the Camargue region of France. *J. Agric. Food Chem.* 2013a;61(33):7976-7986. DOI 10.1021/jf401937b.
- Pereira-Caro G., Watanabe S., Crozier A., Fujimura T., Yokota T., Ashihara H. Phytochemical profile of a Japanese black-purple rice. *Food Chem.* 2013b;141:2821-2827. DOI 10.1016/j.foodchem.2013.05.100.
- Rahman M.M., Lee K.E., Lee E.S., Matin M.N., Lee D.S., Yun J.S., Kim J.B., Kang S.G. The genetic constitutions of complementary genes Pp and Pb determine the purple color variation in pericarps with cyanidin-3-O-glucoside depositions in black rice. *J. Plant Biol.* 2013;56(1):24-31. DOI 10.1007/s12374-012-0043-9.
- Rice Almanac. 4th edition. Global Rice Science Partnership. Los Baños (Philippines): International Rice Research Institute, 2013.
- Rice Recipes in the Philippines. Nueva Ecija: Philrice, 2005.
- Saka N., Terashima T., Kudo S., Kato T., Sugiura K., Endo I., Shirota M., Inoue M., Otake T. A new purple grain glutinous rice variety 'Minenomurasaki' for rice processing. *Res. Bull. Aichi Agric. Res. Ctr. (Japan).* 2007;39:111-120.
- Shao Y., Xu F., Chen Y., Huang Y., Beta T., Bao J. Analysis of genotype, environment, and their interaction effects on the phytochemicals and antioxidant capacities of red rice (*Oryza sativa* L.). *Cereal Chem.* 2015;92(2):204-210. DOI 10.1094/CCHEM-06-14-0126-R.
- Sumczynski D., Kotásková E., Družbiková H., Mlček J. Determination of contents and antioxidant activity of free and bound phenolics compounds and in vitro digestibility of commercial black and red rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *Food Chem.* 2016;15(211):339-346. DOI 10.1016/j.foodchem.2016.05.081.
- Sweeney M.T., Thomson M.J., Pfeil B.E., Mc Couch S. Caught red-handed: *Rc* encodes a basic helix-loop-helix protein conditioning red pericarp in rice. *Plant Cell.* 2006;18(2):283-294. DOI 10.1105/tpc.105.038430.
- Tang S., Wang Z. Breeding for superior quality aromatic rice varieties in China: Speciality rices of the world. Breeding, Production and Marketing. FAO, Rome. 2001;35-44.
- Xu T.Y., Sun J., Chang H.L., Zheng H.L., Wang J.G., Liu H.L., Yang L.M., Zhao H.W., Zou D.T. QTL mapping for anthocyanin and proanthocyanidin content in red rice. *Euphytica.* 2017;213(11):213-243.
- Wang C., Shu Q. Fine mapping and candidate gene analysis of purple pericarp gene *Pb* in rice (*Oryza sativa* L.). *Chinese Sci. Bull.* 2007;52:3097-3104. DOI 10.1007/s11434-007-0472-x.
- Zelenskaya O., Zelensky G., Yanchenko V. On the use of red rice in breeding. Rice Genetic Resources and Breeding for Europe and Other Temperate Areas: Proc. of Eurorice 2001 Symposium, Krasnodar: KSAU – Montpellier: CIRAD, IRD, 3-8 September 2001. Available at: <http://agritrop.cirad.fr/509127/>
- Zelensky G.L. Rice: Biological Principles of Breeding and Farming Practices: Monograph. Krasnodar: KubSAU, 2016.
- Zhang H., Shao Y., Bao J., Beta T. Phenolic compounds and antioxidant properties of breeding lines between the white and black rice. *Food Chem.* 2015;172:630-639. DOI 10.1016/j.foodchem.2014.09.118.
- Zhang M.W., Zhang R.F., Zhang F.X., Liu R.H. Phenolic profiles and antioxidant activity of black rice bran of different commercially available varieties. *J. Agric. Food Chem.* 2010;58:7580-7587. DOI 10.1021/jf1007665.
- Zhu Q., Yu S., Zeng D., Liu H., Wang H., Yang Z., Xie X., Shen R., Tan J., Li H., Zhao X., Zhang Q., Chen Y., Guo J., Chen L., Liu Y.-G. Development of "Purple Endosperm Rice" by engineering anthocyanin biosynthesis in the endosperm with a high-efficiency transgene stacking system. *Mol. Plant.* 2017;10(7):918-929. DOI 10.1016/j.molp.2017.05.008.
- Ziska L.H., Gealy D.R., Burgos N., Caicedo A.L., Gressel J., Lawton-Rauh A.L., Avila L.A., Theisen G., Norsworthy J., Ferrero A., Viddotto F., Johnson D.E., Ferreira F.G., Marchesan E., Menezes V., Cohn M., Linscombe S., Carmona L., Tang R., Merotto Jr. A. Weedy (red) rice: an emerging constraint to global rice production. *Adv. Agron.* 2015;129(Ch.3):181-228. DOI 10.1016/bs.agron.2014.09.003.

A comparative study of spring triticale varieties in the Western Siberian forest-steppe zone under different conditions of vegetation

A. Cheshkova¹✉, P. Stepochkin², A. Aleynikov¹, I. Grebennikova¹, D. Chanyshv¹

¹ Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies RAS, Krasnoobsk, Novosibirsk region, Russia

² Siberian Research Institute of Plant Production and Breeding – Branch of the Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Krasnoobsk, Novosibirsk region, Russia

Spring triticale (*×Triticosecale* Wittmack) for Western Siberia is new and poorly studied culture. The objective of this study was to investigate the potential of spring triticale varieties and breeding lines and their adaptation to different conditions in Western Siberia. A field experiment was conducted in Novosibirsk region, Russia in 2014. The experiment included seven spring triticale genotypes: the elite variety Ukro, three mutant forms of the facultative type of development (Sirs 57/2/4, Cecad 90/5, O.312/38) and three hybrids (Sirs 57/2/4 × Ukro, Ukro × K-3881, the complex hybrid winter wheat Filatovka × winter rye Korotkostebel'naya 69304 × Sirs 57/2/4). They were studied at two sowing rates (400 seeds per m² and 800 seeds per m²) and on two sowing dates (15 May 2014 and 27 May 2014). The following attributes were measured: grain yield, number of ears, plant height, yield components (ear length, number of spikelets per ear, number of grains per ear, grains weight per ear) and yield quality (1000-grain weight and test weight of one-liter grain volume). The three-factor analysis of variance revealed that sowing rate effect explained the major part of the total experimental variation in almost all of the traits, except 1000-grain weight and test weight, the variation of which was determined predominantly by genotype effect. The highest grain productivity of varieties was obtained for the 15 May sowing date at the 400 seeds per m² sowing rate. The three mutant forms used in the experiment showed a lower level of adaptability in comparison with the variety Ukro.

Key words: adaptation; density; sowing period; spring triticale; yield components.

Изучение форм ярового тритикале в лесостепи Западной Сибири при разных условиях летней вегетации

А.Ф. Чешкова¹✉, П.И. Стёпочкин², А.Ф. Алейников¹, И.Г. Гребенникова¹, Д.И. Чанышев¹

¹ Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук, Новосибирская область, Новосибирский район, р.п. Краснообск, Россия

² Сибирский научно-исследовательский институт растениеводства и селекции – филиал Федерального исследовательского центра Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

Яровой тритикале (*×Triticosecale* Wittmack) для Западно-Сибирского региона является относительно новой и мало-изученной культурой. Цель данного исследования – определение возможностей адаптации сортов и гибридов ярового тритикале к различным условиям произрастания в Западной Сибири. Эксперимент проводился в 2014 г. на опытном поле Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий РАН. Изучались семь форм ярового тритикале: три мутантные формы факультативного типа развития (Сирс 57/2/4, Цекад 90/5, О.312/38), три гибрида F₅ (Сирс 57/2/4 × Укро, Укро × К-3881, сложный гибрид озимая пшеница Филатовка × озимая рожь Короткостебельная 69 × Сирс 57/2/4) и сорт Укро – образец из коллекции ВИР с каталожным номером К-3644. Опыт был проведен при двух нормах высева (400 зерен на 1 м² и 800 зерен на 1 м²) и двух сроках посева (15.05.2014 и 27.05.2014) в четырех повторностях. Образцы оценивались по девяти признакам, связанным с урожайностью и качеством зерна (общий вес зерен, число продуктивных побегов, высота растения, длина колоса, число колосков в колосе, число зерен в колосе, вес зерен колоса, масса 1000 зерен, натура зерна). В результате проведенного трехфакторного дисперсионного анализа установлено, что различия в плотности сева являлись главным источником вариации большинства изучаемых признаков. Только вариации массы 1000 зерен и натуры зерна были обусловлены преимущественно генотипическими особенностями растений. Наибольшая зерновая продуктивность образцов получена при сроке посева 15.05.2014 и плотности посева 400 зерен на 1 м². Мутантные формы ярового тритикале в проведенном опыте показали более низкий уровень адаптивности к различным условиям произрастания по сравнению с сортом Укро.

Ключевые слова: яровой тритикале; плотность посева; сроки сева; адаптация сортов.

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Cheshkova A., Stepochkin P., Aleynikov A., Grebennikova I., Chanyshv D. A comparative study of spring triticale varieties in the Western Siberian forest-steppe zone under different conditions of vegetation. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(3):304-309. DOI 10.18699/VJ18.364 (in Russian)

УДК 633.11:631.53.027.32 (292.511)
Поступила в редакцию 11.12.2017
Принята к публикации 20.01.2018
© АВТОРЫ, 2018



e-mail: anna.cheshkova@sorashn.ru

Being a cross between wheat and rye, triticale combines the high-yield potential of wheat with the biotic and abiotic stress tolerance of rye, making it suitable for production in marginal areas (Badiyal et al., 2014; Arough et al., 2016). The main triticale-growing areas are Belarus, France, Germany and Poland (FAO, 2015; Losert et al., 2017).

In the Western Siberian region also, winter triticale is widely cultivated. For more than 10 years, Siberian farmers have been planting the varieties Cecad 90 and Sirs 57, developed by the Siberian Research Institute of Plant Production and Breeding – Branch of the Institute of Cytology and Genetics (SibRIPP&B). These varieties have an awnless spike and are donors of short straw, inherited from the rye variety Korotkostebel'naya 69 that possesses a dominant gene for short stem (Styopochkin, 2001). These varieties occupy an area of more than 30,000 hectares in Western Siberia. However, the Siberian climate provides a permanent risk of freezing injury for all winter crops, including triticale.

Spring triticale for Western Siberia is new and poorly studied culture. Most of the samples from the world VIR (N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources) collection studied at SibRIPP&B are not adopted enough to the forest-steppe conditions of Western Siberia. They have a long straw, an awned spike and a tendency to lodging. Such as Ukrainian cultivar Ukro. It is necessary to evaluate the best samples of the world collection and some breeding forms under different natural conditions for their grain production potential and components of productivity.

In the populations of winter cultivars Cecad 90, Sirs 57, and a selection form O.312, mutant plants were found, which were capable of shifting to the generative development without vernalization. Sown in autumn, they develop as winter forms; sown in spring, they develop as spring forms. Thus, these mutant forms have actually the facultative type of development. The aim of the research was to study the main yield components of these three mutant forms in comparison with other three hybrids of spring triticale and the cultivar Ukro under different growth conditions in the Western Siberian region.

Grain yield of triticale is usually positively correlated with number of ears per square meter and the yield components of the ear – ear length, number of spikelets per ear, number of grains per ear, and grain weight per ear (Stoyanov, Baychev, 2015; Cheshkova et al., 2016). All of these yield components are highly influenced by different environmental and technological factors (Dumbrava et al., 2016; Kuhling et al., 2017) and by genotype of plants (Tams et al., 2004). Thus, for the completeness of the study, it is necessary to take into account all the components of triticale productivity.

Materials and methods

Study area and conditions. The study was conducted in Novosibirsk region, Russia (54°55'11" N, 82°59'27" E) in 2014. The experimental field was located in the forest-steppe zone, the soil composition of which is leached black soil of average thickness (40 cm) with humus content = 6–8 %, total nitrogen = 0.3–0.4 %, P_2O_5 = 0.17 %, K_2O = 20–25 mg/100 g, pH = 5.0–5.1.

The meteorological conditions during the period of photosynthetic activity, growth and development of plants were not sufficiently balanced in temperature regime and moisture

supply. The crop-growing period of 2014 was characterized by an increased sum of the effective temperatures (1577.4 in comparison with the multi-year average value of 1317) and an nonsignificant lack of moisture (the sum of rainfall during the growing season was 193.2 mm or 91.0 % of the multi-year average value). In June, July and August, the mean monthly temperature was 17.4, 20.2 and 18.4 °C, respectively, – or 0.5, 0.8 and 2.2 °C above the multi-year average. The amount of rainfall in June was 32.0 %; in July, 126.0 %; in August, 48.0 % of the multi-year average value.

Plant material. The experiment included seven triticale genotypes (Table 1).

Experimental design and measurements. Seedlings were grown manually in fallow soil at two sowing rates (400 seeds per m² and 800 seeds per m²) and on two sowing dates (15 May 2014 and 27 May 2014). The experimental field was divided into four main plots 1.5 m wide × 4.5 m long for each of 2 × 2 combinations of sowing rates and sowing dates. In each plot, 7 genotypes were arranged in 7 × 4 subplots in a randomized complete block design with four replications.

At maturity, the number of productive stems (number of ears) was recorded from 0.09 m² for each experimental variant. Then plants were harvested from that area, grain weight was recorded, and grain yield was determined.

The plants from each replication were taken for the analysis of plant productivity elements. The following plant traits were measured: plant height, ear length, number of spikelets per ear, number of grains per ear, and grain weight per ear.

Weight of 1000 grains was calculated from the weight of three sets of 100 randomly chosen grains for each experimental variant. Test-weight of one-liter grain volume was calculated using the method of grains measure in a micro-vessel (Stepochkina, Stepochkin, 2015).

Statistical analysis. The package 'R' (R Development Core Team, 2014) was used for the statistical analysis. A mixed model was fitted, in which sowing rates, sowing dates and genotypes were considered fixed factors and replications were considered random effects. Normality of model residuals was assessed by Shapiro–Wilk test, and homogeneity of variance was assessed by Levene's test. Fisher's least significant difference (LSD) test was used to identify differences between treatment means at $p \leq 0.05$ (Teetor, 2011).

Results

The June drought adversely affected the development of plants. Many drought-weakened plants at the beginning of the tillering phase were damaged by insect pests. The most damaged were the hybrid FKS and two mutant forms, Cecad 90/5 and O.312/38.

The analysis of variance showed that all main factors for almost all traits under study were significant (Table 2); only test weight was not affected by the sowing date. The variability induced by sowing rate constituted a major part of the variation in number of ears, ear length, number of spikelets per ear, number of grains per ear, grain weight per ear and grain yield; while variation in plant height, 1000-grains weight and test weight was explained to a greater extent by genotype effect.

Among the genotypes examined (Fig. 1), Ukro had the highest values for ear number, plant height, grain weight per ear, 1000-grain weight and grain yield. Sirs 57/2/4 showed

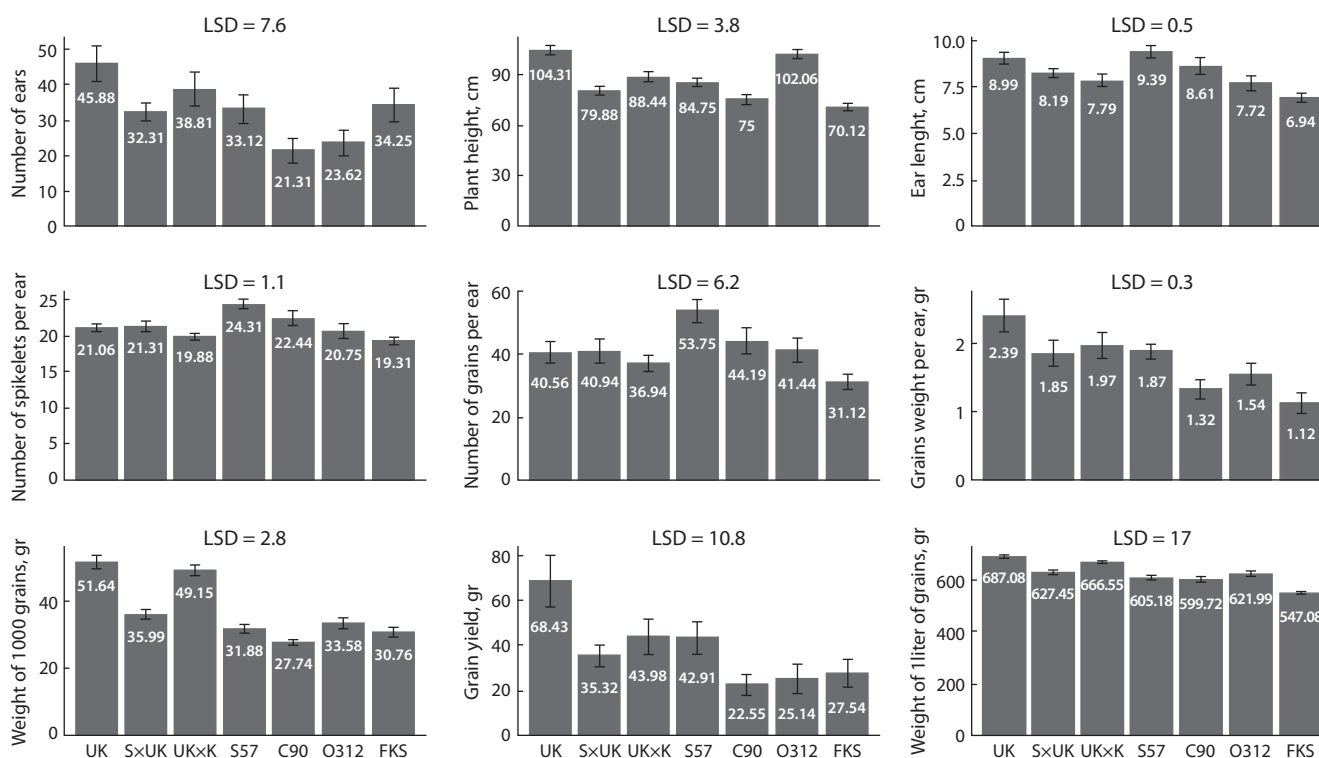
Table 1. Triticale lines and cultivars studied

Name	Origin	Description
Ukro (UK)	Ukraine	A cultivar from VIR collection, catalog number K-3644
Sirs 57/2/4 (S57)	Russia, Novosibirsk	Mutant form
Cecad 90/5 (C90)		
O.312/38 (O312)		
Sirs 57/2/4 × Ukro (S×UK)	»	Hybrid, F ₅
Ukro × Mexican sample of VIR collection K-3881 (UK×K)		
Winter wheat Filatovka × winter rye Korotkostebel'naya 69 × Sirs 57/2/4 (FKS)	»	Complex hybrid, F ₅

Table 2. Analysis of variance (percentage of the sum of squares) for morphological traits and yield components of triticale varieties grown at different sowing rates and under different sowing dates

Source of variation	d. f.	Number of ears	Plant height	Ear length	Number of spikelets per ear	Number of grains per ear	Grain weight per ear	1000-grain weight	Grain yield	Test weight
Genotype	6	19.7***	62.9***	27.6***	23.3***	19.1***	26.5***	69.8***	22.1***	65.5***
Sowing date	1	4.53***	10.5***	6.44***	6.18***	5.57***	8.56***	3.77***	7.98***	0.29
Sowing rate	1	32.3***	0.43*	36.4***	34.7***	41.4***	27.3***	0.99***	39.6***	6.93***
Genotype × sowing date	6	6.13**	7.32***	1.87	1.69	2.15	2.65	4.60***	3.77**	0.62
Genotype × sowing rate	6	5.24**	3.62***	4.65***	9.72***	2.69	3.87*	5.95***	6.67***	7.63***
Sowing date × sowing rate	1	0.10	0.73**	0.94**	1.58**	0.0001	0.35	0.10	0.74*	0.42
Genotype × sowing date × sowing rate	6	3.33	5.03***	2.27	3.69**	1.69	2.38	3.82***	1.00	2.77**
Error	84	28.6	9.54	19.8	19.1	27.4	28.4	10.9	18.2	15.8

*, ** and *** Significant at 0.1, 0.05 and 0.01 significance level, respectively.


Fig. 1. Mean values (±SE) of morphological traits and yield components of triticale varieties.

LSD, Least Significant Difference with $p < 0.05$.

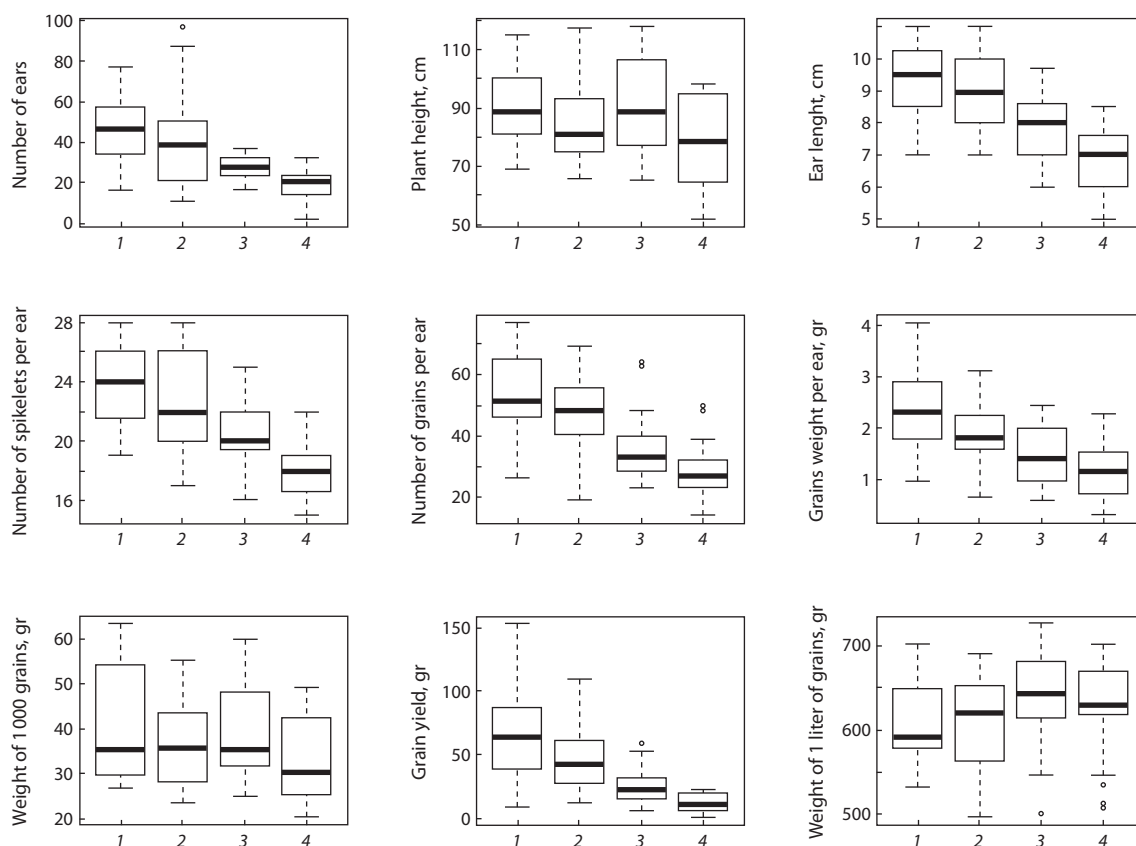


Fig. 2. Boxplots for traits under study at four experimental plots.

Numbers on X-axis are: 1, seeded on 15 May at 400 seeds per m²; 2, seeded on 27 May at 400 seeds per m²; 3, seeded on 15 May at 800 seeds per m²; 4, seeded on 27 May at 800 seeds per m².

the highest values for ear length, number of spikelets per ear and number of grains per ear. The lowest values of grain yield were found for Cecad 90/5 and the complex hybrid FKS.

Sowing date $\times$ sowing rate interaction was significant for plant height, ear length and number of spikelets per ear (Fig. 2). The highest mean values for almost all the traits were obtained for the 15 May sowing date at the 400 seeds per m² sowing rate. The lowest, for the 27 May sowing date at the 800 seeds per m² sowing rate. Thus, the later date of sowing and the higher sowing density adversely affected the yield components. However, the largest mean value for test weight was for the 15 May sowing date at the 800 seeds per m² sowing rate.

Genotype $\times$ sowing date interaction was significant for number of ears, plant height, 1000-grain weight and grain yield. Differences in the mean values of traits under study between triticale varieties seeded on 15 May and those seeded on 27 May are shown in Figure 3. Most of the triticale varieties had higher values of traits for the earlier than for the later sowing date. Only the hybrid Sirs 57/2/4 $\times$ Ukro had lower number of ears, plant height, 1000-grain weight and grain yield for the first date compared to the second date.

Genotype $\times$ sowing rate interaction was significant for number of ears, plant height, ear length, number of spikelets per ear, 1000-grain weight, grain yield and test weight. The differences in mean values of traits between triticale varieties seeded at 400 seeds per m² and those seeded at 800 seeds

per m² are shown in Figure 4. For all triticale varieties, mean values of number of ears, ear length, number of spikelets per ear and grain yield were higher for the sowing rate of 400 seeds per m² than for 800 seeds per m². However, 1000-grain weight was larger at 800 seeds per m² for Sirs 57/2/4, Cecad 90/5 and Sirs 57/2/4 $\times$ Ukro; and test weight was larger at 800 seeds per m² for all varieties, except FKS.

Discussion

The experiment showed that the mutant forms studied, Sirs 57/2/4, Cecad 90/5 and O.312/38, had a lower grain production potential than the cultivar Ukro. This was attributable to the fact that the mutant forms were obtained from winter varieties adapted to the prolonged autumn-summer vegetation. These results are in agreement with experiments on vernalization response conducted by Herndl et al. (2008) and Košner, Pánková (2002).

The highest grain productivity of varieties was obtained for the 15 May sowing date at the 400 seeds per m² sowing rate. Later sowing date (27 May) and higher seed rate (800 seeds per m²) can be considered stress factors, as these factors decreased almost all yield components, except 1000-grain weight and test weight. These two traits, on the contrary, showed higher values at the higher seed rate and were not much affected by the sowing date. Similar results were reported by Aparna et al. (2014), who indicated that stress conditions reduced yield through lower grain number,

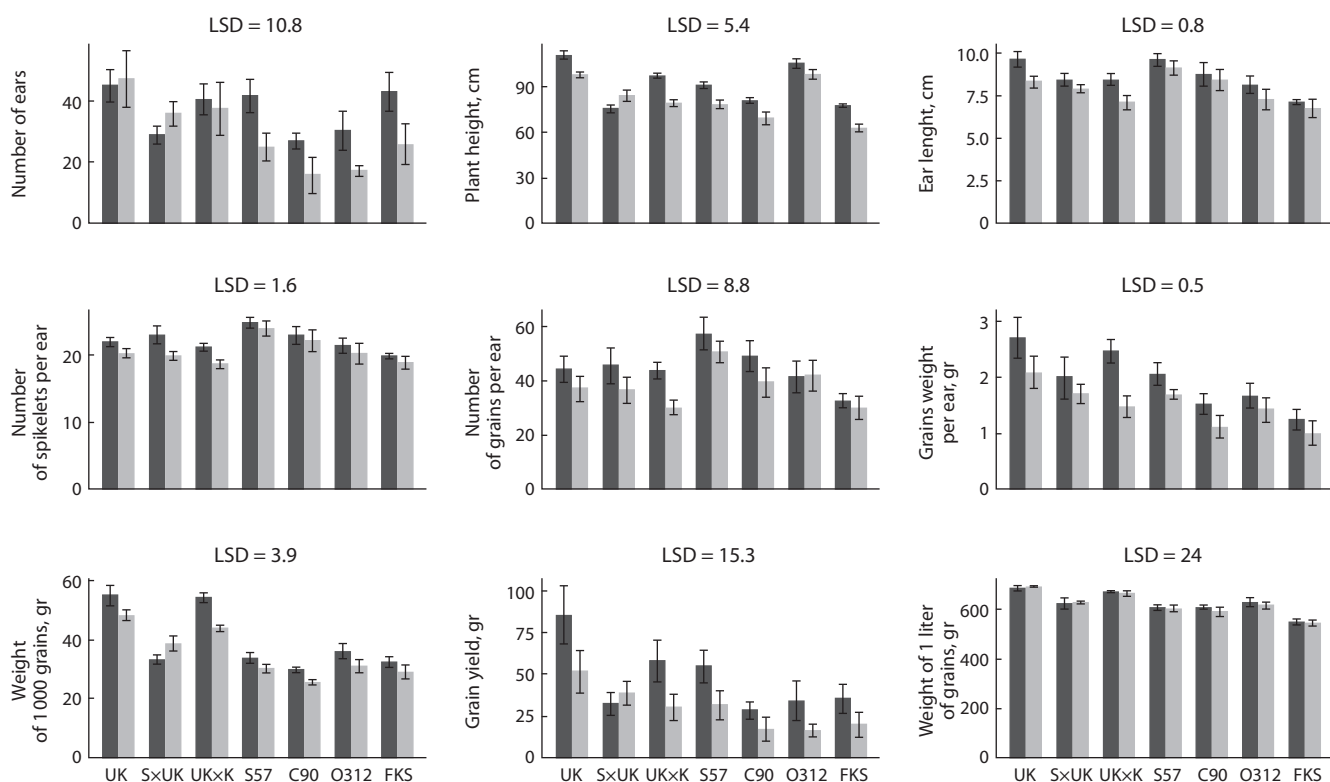


Fig. 3. Effect of genotype × sowing date interaction for morphological traits and yield components of triticale varieties.

Dark bars indicate mean values ($\pm$ SE) for each variety seeded on 15 May 2014, light bars indicate mean values ($\pm$ SE) for each variety seeded on 27 May 2014. LSD, Least Significant Difference with $p < 0.05$.

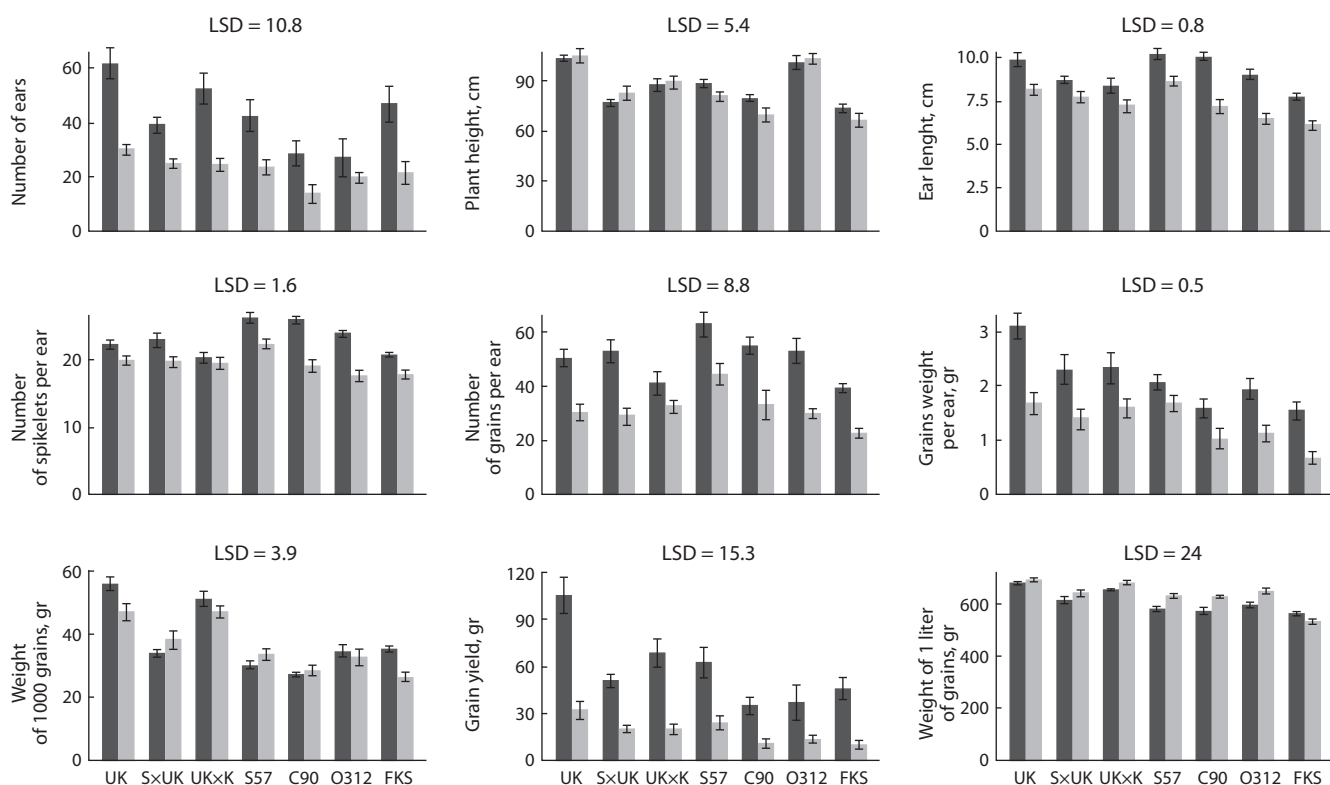


Fig. 4. Effect of genotype × sowing rate interaction for morphological traits and yield components of triticale varieties.

Dark bars indicate mean values ($\pm$ SE) for each variety with 400 seeds per m^2 sowing density, light bars indicate mean values ($\pm$ SE) for each variety with 800 seeds per m^2 sowing density. LSD, Least Significant Difference with $p < 0.05$.

but not through reduction in 1 000-seed weight. In addition, Dumbrava et al. (2016) concluded that high values of the test weight were determined by the small number of ears per m² and the small number of grains per ear, which influenced the apparent density of grains.

The three-factor analysis of variance revealed that sowing rate effect explained the major part of the total experimental variation in almost all of the traits, except 1 000-grain weight and test weight, the variation of which was determined predominantly by genotype effect. That corresponds with earlier reports by Burdujan et al. (2014).

Acknowledgements

This work was supported by IC&G budget project No. 0324-2018-0018 in part of field trial and experimental measurements and by SFSCAT budget project No. 0778-2016-0780 in part of statistical analysis.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Aparna K., Hash C.T., Yadav R.S., Vadez V. Seed number and 100-seed weight of pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.) respond differently to low soil moisture in genotypes contrasting for drought tolerance. *J. Agron. Crop. Sci.* 2014;200:119-131. DOI 10.1111/jac.12052.
- Arough Y.K., Seyed Sharifi Raouf, Seyed Sharifi Reza. Bio fertilizers and zinc effects on some physiological parameters of triticale under water-limitation condition. *J. Plant Interact.* 2016;11:1 167-177. DOI 10.1080/17429145.2016.1262914.
- Badiyal A., Chaudhary H.K., Jamwal N.S., Hussain W., Mahato A., Bhatt A.K. Interactive genotypic influence of triticale and wheat on their crossability and haploid induction under varied agroclimatic regimes. *Cereal Res. Commun.* 2014;42:700-709. DOI 10.1556/CRC.2014.0017.
- Burdujan V., Rurac M., Melnic A. Productivity and quality of winter triticale (*×Triticosecale* Wittmack) in multifactorial experiments. *Scientific Papers. Series A. Agronomy.* 2014;LVII:119-122.
- Cheshkova A., Aleynikov A., Steepochkin P. Analysis of covariation of quantitative characters of triticale. *Achievements Sci. Technol. AIC.* 2016;30:50-52.
- Dumbravă M., Ion V., Epure L.I., Băşa A.G., Ion N., Duşa E.M. Grain yield and yield components at triticale under different technological conditions. *Agric. Agric. Sci. Procedia.* 2016;10:94-103.
- FAO, 2015: Statistical Yearbook. World Food and Agriculture. Rome, 2015.
- Herndl M., White J.W., Hunt L.A., Graeff S., Wilhelm C. Field-based evaluation of vernalization requirement, photoperiod response and earliness per se in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Field Crops Res.* 2008;105:193-201. DOI 10.1016/j.fcr.2007.10.002.
- Košner J., Pánková K. Vernalisation response of some winter wheat cultivars. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 2002;38:97-103.
- Kuhling I., Redozubov D., Broll G., Trautz D. Impact of tillage, seeding rate and seeding depth on soil moisture and dryland spring wheat yield in Western Siberia. *Soil Till. Res.* 2017;170:43-52. DOI 10.1016/j.still.2017.02.009.
- Losert D., Maurer H.P., Marulanda J.J., Würschum T. Phenotypic and genotypic analyses of diversity and breeding progress in European triticale (*×Triticosecale* Wittmack). *Plant Breed.* 2017;136:18-27. DOI 10.1111/pbr.12433.
- R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. 2014. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. Available at: <http://www.R-project.org>
- Stepochkina N.I., Steepochkin P.I. The use of micropurka in determining grain nature of single plants of triticale and wheat. *Achievements Sci. Technol. AIC.* 2015;11:39-40.
- Stoyanov H., Baychev V. Correlations between spike parameters of first generation direct and reciprocal crosses of Triticale (*×Triticosecale* Wittm.). *Agricult. Sci.* 2015;18:25-34.
- Styepochkin P.I. Working out and studies of Siberian triticale genepool. In: *Proceed. Intern. Conf. "Genetic Collections, Isogenic and Alloplasmic Lines"*. Novosibirsk, Russia, 2001:235-237.
- Tams S.H., Bauer E., Oettler G., Melchinger A.E. Genetic diversity in European winter triticale determined with SSR markers and coancestry coefficient. *Theor. Appl. Genet.* 2004;108:1385-1391. DOI 10.1007/s00122-003-1552-1.
- Teetor P. R Cookbook. O'Reilly Media, 2011;413.

Пластичность образа жизни у группы озимых образцов пшеницы и тритикале

В.Е. Козлов✉, В.И. Пономаренко, Е.П. Размахнин

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

Использование «яровых аналогов» для исследования зимостойкости пшеницы дает возможность создавать более зимостойкие сорта. Пластичность образа жизни (способность развиваться по яровому типу при яровом посеве) озимых сортов позволяет выделять такие «аналоги». В условиях Западной Сибири проверена зимостойкость 34 озимых образцов пшеницы и тритикале из Краснодарского края. Их потомства были посеяны ранней весной вблизи Новосибирска для изучения их пластичности и получения «яровых аналогов». Осенью у пяти образцов не было фертильных растений, а у остальных 29 образцов их доля не превышала 59.3 % отчасти из-за наличия стерильных растений. Полученное яровое потомство было высеяно на месяц позже в следующем году. Осенью среди потомков лишь 15 озимых образцов обнаружены фертильные растения. Но у 28 образцов присутствовали также растения в стадии кущения к началу зимовки. Некоторые из них перезимовали и сформировали семена на следующий год раньше посевов озимых сортов. Несмотря на песчанистую почву (низкое содержание влаги) и сильную майско-июньскую засуху, среди этих растений наблюдалась изменчивость по продуктивности. Такие «озимо-яровые» растения можно использовать для селекции образцов пшеницы и тритикале, пригодных для посева в конце весны – начале лета и уборки на следующий год раньше озимых сортов. Эти образцы будут соответствовать требованиям *sustainable agriculture*, потому что «озимо-яровые» растения были выделены в крайне неблагоприятных условиях: песчанистая кислая (рН 4.9–5.3) малоплодородная почва без внесения удобрений, содержание азота в верхнем слое 0–40 см ниже 25 кг/га. Существует теоретическая возможность селекции «озимо-яровых» растений в качестве подпокровной культуры.

Ключевые слова: зимостойкость; озимая пшеница; тритикале; «яровые аналоги»; пластичность образа жизни; стерильность.

Seasonal life history plasticity of the group of winter wheat and triticale accessions

V.E. Kozlov✉, V.I. Ponomarenko, E.P. Razmakhnin

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

The application of “spring analogs” to explore winterhardness of wheat gives the possibility to obtain cultivars with higher hardiness. Seasonal life history plasticity of winter cultivars gives the possibility to obtain such “analogs”. Winterhardness of 34 winter wheat and triticale accessions from Krasnodar was tested in West Siberia environment. Their offsprings were sown early in the spring near Novosibirsk to study their plasticity and to obtain “spring analogs”. In the fall the percentage of fertile plants was equal to 0 in the case of 5 accessions and to not more than 59.3 in other 29 accessions partly because of the presence of sterile plants. The progeny of this sowing was sown next year late in the spring. As a result, in the fall fertile plants were observed in the progeny of only 15 winter accessions. Also plants at the stage of tillering were observed in the progeny of 28 accessions at the beginning of winter. Some of them survived and developed seeds next year earlier than winter cultivars. Variability in performance was observed between these plants in spite of sandy soil (low humidity content) and May–June strong drought. So, such “winter-spring” plants can be used for breeding wheat and triticale accessions suitable for sowing late in the spring or early in the summer and harvesting next year earlier than winter cultivars. They can be developed in accordance with *sustainable agriculture*, because “winter-spring” plants were generated in an extremely unfavourable environment: sandy acid soil (pH 4.9–5.3) with low fertility (nitrogen content in the upper 40-cm layer was below 25 kg/ha) without fertilizer application. There is a theoretical possibility to breed “winter-spring” plants in simultaneous sowings with spring cultivars.

Key words: winterhardness; winter wheat; triticale; “spring analogs”; seasonal life history plasticity; sterility.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Козлов В.Е., Пономаренко В.И., Размахнин Е.П. Пластичность образа жизни у группы озимых образцов пшеницы и тритикале. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(3):310-315. DOI 10.18699/VJ18.365

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Kozlov V.E., Ponomarenko V.I., Razmakhnin E.P. Seasonal life history plasticity of the group of winter wheat and triticale accessions. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(3):310-315. DOI 10.18699/VJ18.365 (in Russian)

В настоящее время мы проводим селекцию на увеличение зимостойкости группы современных озимых сортов пшеницы и тритикале, выведенных в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко». Сорта обладают прочной соломиной и потенциалом урожайности зерна 90–100 ц/га. Расширение знаний о механизмах формирования признака зимостойкости, несомненно, может внести вклад в решение поставленной задачи. Об этом, в частности, говорит опыт наших исследований. Так, ощутимый прогресс в исследовании зимостойкости достигнут нами в результате сравнительного исследования динамики биологической активности рострегулирующих веществ в процессе осеннего закаливания озимых сортов мягкой пшеницы и их так называемых яровых аналогов – растений с яровым типом развития. Они были получены В.М. Чекуровым у среднезимостойкого сорта пшеницы Мироновская 808 и высокозимостойкого сорта Ульяновка в яровом посеве (Козлов, 1987). Активность этих веществ проверяли с помощью биотеста на отрезках coleoptiles пшеницы (зона клеток, растущих растяжением) после фракционирования экстрактов тканей растений тонкослойной хроматографией.

Выбор биотеста основан на том, что мелкоклеточность зимующих травянистых растений повышает их зимостойкость (Туманов, 1979). Поэтому предполагалось, что ощутимый уровень активности ингибиторов роста клеток растяжением способен вносить вклад в повышение зимостойкости. Химическая идентификация содержимого хроматографических зон не производилась. Показано, что и у озимого сорта, и у его «ярового аналога» в процессе осеннего развития качественно одинаково, но количественно по-разному снижалась активность стимуляторов роста клеток растяжением и возрастала активность их антагонистов, ингибиторов. У озимого сорта эти изменения были выражены отчетливее. У пары Ульяновка – ее «яровой аналог» такие изменения опережали события пары Мироновская 808 – ее «яровой аналог» и были выражены гораздо сильнее. В то же время растения «ярового аналога» Ульяновки погибли под снежным покровом в ходе зимовки, а растения «ярового аналога» Мироновской 808 погибли спустя 10 дней при температуре воздуха –7, –10 °C без снежного покрова. Очевидно, что это наблюдение не противоречит предположению о вкладе ингибиторов роста клеток растяжением в формирование зимостойкого состояния и позволяет расширить его. Чем выше уровень такой активности, развиваемой в осенний период, тем выше достигаемый уровень зимостойкости.

Между озимым сортом и его «яровым аналогом» существует достаточно близкое генетическое родство, отчасти нарушаемое наличием свойств, соответственно, озимости и яровости. Поэтому наше предположение можно переформулировать. Растения пшеницы, независимо от их образа жизни, посеянные осенью, в ответ на осенние условия среды качественно одинаково снижают ростовые процессы и накапливают активность ингибиторов роста клеток растяжением, что вносит вклад в их устойчивость к предстоящим неблагоприятным условиям среды в зимний период. И чем выше достигаемый уровень активности ин-

гибиторов, тем выше уровень достигаемой устойчивости. Более того, активность ингибиторов у высокозимостойкого сорта Ульяновка незначительно изменилась на протяжении зимовки в отличие от среднезимостойкого сорта Мироновская 808. Снижение в этот период сухого веса растений обоих сортов из-за метаболизма без фотосинтеза под снежным покровом следовало той же тенденции. Таким образом, у Ульяновки стабильнее поддерживался низкий уровень метаболизма, что является одной из предпосылок высокой зимостойкости (Козлов, 1983а, б, 2012; Чекуров и др., 1992; Чекуров, Козлов, 2003; Chekurov, Kozlov, 2005). На основании этого сделано предположение о необходимости отбора на способность сохранять низкий уровень метаболизма в ходе зимовки при селекции озимой пшеницы в Сибири. Его подтвердили наши полевые опыты в условиях малоснежья, которое слабо защищает растения от действия мороза. Предварительный отбор по этому показателю существенно повышал долю растений, выживавших в условиях сильных морозов. По результатам можно сделать вывод, что сохранение у растений зимой низкого уровня метаболизма и развиваемая в итоге высокая морозостойкость на протяжении зимовки – необходимые условия успешного выживания посевов озимых в Сибири. Селекция по этим двум показателям позволила получить группу сортов озимой пшеницы, возделываемых в Сибири (Чекуров и др., 1992; Chekurov, Kozlov, 2005; Kozlov, 2011). В их числе сорта: Багратионовская (стандарт морозостойкости пшеницы в СССР), Кулундинка, Новосибирская 32 (стандарт морозостойкости пшеницы в России в настоящее время), Новосибирская 40 и Новосибирская 51.

Пример привлечения «яровых аналогов» в исследование механизмов формирования зимостойкости у пшеницы показал, что образцы пшеницы, независимо от типа развития (образ жизни: яровой или озимый), в ответ на осенние условия среды качественно одинаково изменяют свой метаболизм. Такое изменение служит для увеличения устойчивости к предстоящим условиям зимнего периода. Это наблюдение дало возможность сделать экспериментально подтвержденное предположение о необходимости селекции на сохранение у озимых низкого уровня метаболизма в течение зимовки для выживания. В настоящей работе исследуется пластичность образа жизни (способность развиваться по яровому типу при яровом посеве) у озимых злаков, селективируемых нами в настоящее время, на увеличение зимостойкости до уровня, требуемого в условиях Сибири. Возможно, привлечение «яровых аналогов» совместно с исходными озимыми сортами в молекулярно-генетические исследования механизмов формирования зимостойкости позволит расширить знания в этой области и решить поставленную задачу.

Материалы и методы

Исследовали 25 сортов озимой пшеницы, три сорта озимой тритикале и шесть гибридных популяций озимой пшеницы, выведенных в ФГБНУ «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко» и любезно предоставленных академиком Л.А. Беспаловой. Это сорта озимой пшеницы: Айвина, Афина (двуручка), Батько, Васса, Вершина, Виза, Вита, Восторг, Грация, Гром, Дмитрий, Есаул, Зимница,

Таблица 1. Доверительные интервалы

A*	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Верхний предел	0.259	0.394	0.507	0.607	0.696	0.778	0.850	0.913	0.963	0.995	1.000
Нижний предел	0.000	0.005	0.037	0.087	0.150	0.222	0.304	0.393	0.493	0.606	0.720

*A – число озимых растений-предков.

Зимтра, Коллега, Краля, Краснодарская 99, Кума, Лебедь, Лига 1, Первица, Протон, Таня, Творец и Фишт; озимой тритикале: Валентин 90, Дозор и Сотник; пшеничные межсортовые гибридные популяции: Новосибирская 40 × Афина 7, Новосибирская 51 × Афина 7, Новосибирская 40 × Дмитрий, Новосибирская 40 × Творец, Новосибирская 51 × Дмитрий и Новосибирская 51 × Творец.

Все посевы производили на кислых серых лесных почвах с низким уровнем плодородия без внесения минеральных удобрений. Такие почвенные условия существенно ослабляют количественное выражение ряда признаков у растений, включая зимостойкость и урожайность. В кислых почвах ионы алюминия (Al) переходят в растворенное состояние. Токсичность Al – главный фактор, ограничивающий производство в растениеводстве. Кислые почвы охватывают около 40 % всех возделываемых земель в мире (Ma et al., 2000). Кроме того, в настоящее время широко ведутся исследования в области *sustainable agriculture*. Они направлены на увеличение производства продуктов растениеводства при минимальном использовании, в частности минеральных удобрений, путем повышения эффективности их использования новыми сортами (Ruttan, 1999). Перечисленные обстоятельства указывают на актуальность проведения нашего исследования на серых лесных супесчаных почвах с низким уровнем плодородия без внесения минеральных удобрений. pH почвы был в пределах 4.9–5.3; обеспеченность азотом в слое почвы 0–40 см составляла менее 25 кг/га, что соответствует очень низкому уровню, так как это следствие низкого уровня содержания гумуса – меньше 1.5 % (Сысо и др., 2010).

Для размножения семян и оценки зимостойкости эти образцы были высеяны осенью 2012 г. в лесостепи в окрестностях Новосибирска (Западная Сибирь). Часть зимовки посевов проходила на талой почве под толстым снежным покровом, который лег на незамерзшую почву, т.е. основным повреждающим фактором в зимний период для растений была его длительность в отсутствие фотосинтеза. Она достигала 6 мес, что существенно больше, чем в условиях Краснодарского края (Чекуров и др., 1992). У каждого из изученных нами образцов было выбрано 10 наиболее продуктивных растений. В ранневесенний посев (28.04.2014) у этих растений индивидуально высеяли по 15 зерен, которые взошли. Выросшие из них растения были убраны 15 сентября. Их семена высеяли на следующий год в поздневесеннем посеве (24.05.2015) индивидуально по растениям. Такое чередование сроков посева позволяет, на наш взгляд, селекционировать растения, которые в условиях ярового посева, проводимого в Западной Сибири, способны развиваться по яровому типу и формировать семена. Статистическая обработка проведена согласно (Миллс, 1958). Доверительные пределы для числа озимых растений-предков (A, изменялось от 0

до 10), давших фертильные яровое и «озимо-яровое» (яровой посев–созревание по озимому типу) потомства, приведены в табл. 1 (уровень достоверности 0.95) (Большев, Смирнов, 1983).

Результаты

Исследование пластичности образа жизни проводили в двух поколениях ярового посева. При ранневесеннем посеве не дали ярового потомства растения лишь трех сортов пшеницы: Айвина, Гром и Протон; тритикале Дозор и гибридной популяции Новосибирская 51 × Афина 7. Растения этих образцов либо не достигли спелости, либо оказались стерильными. У остальных 29 изученных образцов доля фертильных потомков в яровом посеве не превышала 59.3 % (табл. 2; сорт Вита) и не достигала доли спелых растений. Таким образом, в условиях ранневесеннего посева у испытанных злаков наблюдался полиморфизм по способности формировать яровое потомство. Эта гетерогенность сохранилась у полученных нами яровых потомков, высеянных на следующий год в полевых условиях в поздневесеннем посеве, что привело к тому, что среди яровых потомков еще 14 озимых образцов не было фертильных растений (см. табл. 2). У сорта-двуручки Афина все яровые потомки двух растений-предков из озимого посева оказались стерильными во втором яровом поколении. Такие растения у этого сорта не наблюдались в озимом посеве в поле и яровом – в теплице. Это, вероятно, говорит о существенном влиянии почвенно-климатических условий опыта на испытанные злаки. За исключением сорта-двуручки Афина, в поздневесеннем посеве 28 образцов в конце вегетационного периода присутствовали растения в стадии розетки листьев–кущения. Часть из них смогла успешно пройти осеннее закаливание и перезимовать, несмотря на крайне неблагоприятные для этого почвенно-климатические условия: низкое плодородие почвы и ее сильная кислотность; пасмурная осенняя погода с частыми дождями (Козлов, 1983а, б); снежный покров лег на незамерзшую почву; в начале зимовки при толщине снега 4–5 см мороз достигал –20 °С, затем наступила длительная оттепель. В табл. 2 в последней графе приведено количество озимых предков из числа озимых растений, исходно взятых в ранневесенний яровой посев, среди яровых потомков которых в поздневесеннем посеве зарегистрированы растения, выжившие после зимовки.

Обсуждение

Исследование пластичности образа жизни у группы озимых злаков предпринято в рамках расширения знаний о механизмах формирования у них признака зимостойкости. У каждого образца было выбрано 10 самых продуктивных растений, т.е. наиболее устойчивых к длительности зимовки. В ранневесеннем посеве у каждого них высеяли

Таблица 2. Фертильность у 34 образцов озимых злаков при ранневесеннем посеве и поздневесеннем пересеве тех, которые дали семена

Ранневесенний посев (28.04.2014)				Поздневесенний пересев (24.05.2015)	
Название образца злака	Число озимых растений-предков, давших потомство ($n = 10$)	Доля фертильных растений, равная $P \pm t \times s$, % ($m = 150$)	Фенотипические стадии развития растений (1.09.2014)	Число озимых растений, яровые потомки которых дали потомство ($n = 10$)	
				яровое	«озимо-яровое»
Айвина	0	0*	Колошение у ≈ 30 % растений, у остальных – розетка листьев	–	–
Афина	10	54.0 ± 7.84	Созревание у всех растений (10.08.2014)	8	–
Батько	9	31.3 ± 7.25	Созревание у ≈ 90 % растений, у остальных – кущение–цветение	0	8
Васса	10	52.7 ± 7.84	»	8	8
Вершина	10	31.3 ± 7.25	Молочная спелость у ≈ 90 % растений	0	7
Виза	8	18.7 ± 6.07	Молочная спелость у ≈ 60 % растений, у остальных – кущение	2	4
Вита	10	59.3 ± 7.84	Восковая спелость у ≈ 85 % растений	5	8
Восторг	7	21.3 ± 6.46	Цветение–молочная спелость у ≈ 70 % растений, у остальных – кущение–трубкавание	0	4
Грация	10	58.7 ± 7.84	Восковая спелость у ≈ 90 % растений	5	10
Гром	0	0*	Колошение у ≈ 10 % растений, у остальных – розетка листьев–кущение	–	–
Дмитрий	10	34.7 ± 7.44	Молочная спелость у ≈ 85 % растений, у остальных – кущение–трубкавание	1	10
Есаул	9	34.7 ± 7.44	Молочная спелость у ≈ 95 % растений	0	7
Зимница	9	25.7 ± 6.86	Цветение–восковая спелость у ≈ 95 % растений, у остальных – кущение	0	4
Зимтра	8	18.0 ± 6.07	Молочно-восковая спелость у ≈ 80 % растений, у остальных – кущение	0	5
Коллега	10	41.7 ± 7.84	Восковая спелость у всех растений	3	10
Краля	10	49.3 ± 7.84	»	2	9
Краснодарская 99	10	54.7 ± 7.84	»	8	10
Кума	10	48.7 ± 7.84	»	9	10
Лебедь	10	38.0 ± 7.84	Молочная спелость у ≈ 60 % растений	10	10
Лига 1	10	32.7 ± 7.44	Молочная спелость у всех растений	0	7
Первица	9	34.7 ± 7.64	Молочно-восковая спелость у всех растений	1	8
Протон	0	0*	Кущение–трубкавание у ≈ 70 % растений, у остальных – цветение	–	–
Таня	7	22.0 ± 6.66	Молочно-восковая спелость у ≈ 90 % растений, у остальных кущение–трубкавание	2	6
Творец	3	4.7 ± 3.33	Молочно-восковая спелость у ≈ 40 % растений, у остальных кущение–цветение	0	2
Фишт	2	8.0 ± 4.34	Полная спелость у ≈ 40 % растений, у остальных – кущение–цветение	0	1
Валентин 90	10	32.3 ± 7.44	Полная спелость у всех растений (раннее созревание: 20.08.2014)	5	1
Дозор	0	0*	Колошение у ≈ 10 % растений, у остальных розетка листьев–кущение	–	–
Сотник	8	37.3 ± 7.64	Полная спелость у ≈ 50 % растений, у остальных восковая спелость	8	7
Н-40 × Афина 7	9	42.9 ± 7.84	Молочно-восковая спелость у всех растений	0	7
Н-51 × Афина 7	0	0*	Полная спелость у всех растений	–	–

Окончание табл. 2

Ранневесенний посев (28.04.2014)				Поздневесенний посев (24.05.2015)	
Название образца злака	Число озимых растений-предков, давших потомство ($n = 10$)	Доля фертильных растений, равная $P \pm t \times s$, % ($m = 150$)	Фенотипические стадии развития растений (1.09.2014)	Число озимых растений, яровые потомки которых дали потомство ($n = 10$)	
				яровое	«озимо-яровое»
H-40×Дмитрий	2	3.3 ± 2.74	Цветение–молочная спелость у $\approx 95\%$ растений	0	2
H-40×Творец	4	8.7 ± 4.50	Кущение–восковая спелость у всех растений	0	4
H-51×Дмитрий	8	27.6 ± 7.05	Цветение–молочная спелость у всех растений	0	8
H-51×Творец	4	9.3 ± 4.50	»	0	4

Примечание. ($n = 10$) – число озимых растений отдельного образца, высеванных весной; ($m = 150$) – число растений в яровом посеве отдельного образца при уборке осенью. H-40 и H-51 – сорта озимой пшеницы Новосибирская 40 и Новосибирская 51 в обозначениях гибридных популяций. «Озимо-яровое» потомство – потомство растений весеннего посева, которые до начала зимовки оставались в стадии розетки листьев–кущения, перезимовали и сформировали семена на следующий год.

* – верхний доверительный предел доли фертильных растений, равной нулю, меньше 3; нижний равен 0 (Большев, Смирнов, 1983). P – доля фертильных растений (%), s – квадратическое отклонение, $t = 1.96$ – коэффициент для уровня достоверности 0.95 (биномиальное распределение) (Миллс, 1958).

15 зерен, которые взошли. В середине сентября лишь у каждого из 13 образцов часть растений в посеве всех 10 озимых предков достигла спелости (см. табл. 2), но не все они были фертильными. Так, даже среди яровых потомков сорта-двуручки Афина фертильными оказались лишь 54 % из 150 растений (см. табл. 2). У каждого из остальных 16 образцов в ранневесеннем посеве не у всех 10 озимых предков наблюдалось хотя бы одно фертильное яровое растение. Таким образом, ранневесенний посев наиболее продуктивных растений из числа выживших после зимовки в условиях Западной Сибири у всех 34 образцов озимых злаков показал их гетерогенность по способности в своем развитии реагировать на необычные агроклиматические условия при таком сроке сева. Это, в частности, привело к неодинаковой скорости прохождения ими стадий онтогенеза и, как следствие, к разному образу жизни их потомков в яровом посеве. При ранневесеннем посеве не исключено воздействие яровизирующих температур на растения, например, в ночные часы. Действительно, в течение месяца со дня посева положительные температуры, не превышающие 10°C , наблюдались 17 раз (<https://www.gismeteo.ru/diary/4690/2014/5/>). Для исключения возможного влияния таких температур на начальные стадии развития растений семена, полученные от первого ярового посева, были пересеяны индивидуально по растениям в поле на следующий год примерно на месяц позднее. Температуры ниже $+10^\circ\text{C}$ в ночные часы лишь дважды наблюдались в течение месяца после посева (<https://www.gismeteo.ru/diary/4690/2015/5/>).

Такие условия развития растений существенно уменьшили у многих озимых образцов число исходных озимых предков, среди яровых потомков которых были фертильные растения (см. табл. 2). Только у сорта пшеницы Лебедь в потомствах всех десяти озимых предков в обоих яровых посевах присутствовали фертильные растения. У тритикале сорта Сотник такая картина наблюдалась для восьми озимых предков (см. табл. 2). У сорта-двуручки Афина потомки восьми из десяти озимых предков смогли

дать семена во втором яровом посеве. Вероятно, это стало результатом влияния условий выращивания предыдущих озимого и ярового поколений в Сибири.

Таким образом, при обоих сроках ярового посева установлена гетерогенность группы озимых злаков по способности либо завершать онтогенез по яровому типу и давать семена, либо задерживать свое развитие, нередко оставаясь в стадии кущения. Отмечен также высокий уровень стерильности, который, вероятно, является результатом действия комплекса причин.

Еще одна особенность второго ярового посева – часть растений у 28 образцов осталась в стадии розетки листьев–кущения, смогла пройти осеннее закалывание, перезимовать и сформировать семена на следующий год. Развитие зимостойкости у этих «озимо-яровых» растений угнетали кислая малоплодородная почва, токсичность ионов Al , пасмурная осенняя погода с частыми дождями (Козлов, 1983а, б). Затем наступил быстрый переход к морозам до -20°C при толщине снега 4–5 см. Кроме того, выживание растений также существенно затрудняла их большая надземная масса, образующаяся при ранних посевах и зачастую приводящая к гибели посевов. Весной после таяния снега наблюдались частые заморозки, под влиянием которых у посевов озимых сортов пшеницы произошло временное изменение зеленой окраски на красно-фиолетовую. В марте 2016 г. снег таял при отрицательной ночной температуре воздуха (кроме шести суток) (<https://www.gismeteo.ru/diary/179528/2016/3/>). Выживаемость «озимо-яровых» растений в таких экстремально неблагоприятных условиях наводит мысль о гетерозисном проявлении у них признака зимостойкости, в особенности морозостойкости в конце зимовки. Это свойство принципиально важно для сохранения посевов озимых в Сибири, где нередко наблюдаются возвратные заморозки весной. С большой долей уверенности можно предположить, что выживаемость в таких условиях посевов испытанных образцов, выполненных осенью семенами из Краснодар, была бы нулевой.

«Озимо-яровые» растения выделены у 21 из 25 сортов озимой пшеницы, у двух из трех сортов озимой тритикале и у пяти из шести гибридных популяций озимой пшеницы. Практическое использование таких растений будет во многом зависеть от того, удастся ли достичь у их потомков стабильного в ряду поколений проявления такого уровня зимостойкости.

Помимо очевидной высокой зимостойкости, «озимо-яровые» растения продемонстрировали еще одну особенность. Весной с началом вегетации в своем развитии они сразу перешли к стадии выхода в трубку, т.е. к генеративному развитию, в то время как рядом росшие посеvy сортов озимой пшеницы проходили стадию весеннего кущения и приступили к стадии выхода в трубку примерно на 20 дней позже. Такое быстрое весеннее развитие «озимо-яровых» растений привело их к более раннему созреванию по сравнению с озимыми сортами. Несмотря на сильную воздушную и почвенную засуху с конца мая до середины июня, среди «озимо-яровых» растений наблюдалась широкая изменчивость по их продуктивности (данные не приводятся). Это открывает возможность селекции среди них не только на способность к сверх-ранним посевам озимых с конца мая в условиях лесостепи Западной Сибири, но и на высокую выраженность других признаков, присущих сортам. Сорта будут более раннеспелыми, чем озимые. Вместе с тем среди растений, которые успешно завершили яровой цикл развития при обоих сроках ярового посева, можно вести селекцию на получение яровых сортов. Исследование этих сортов совместно с «озимо-яровыми» образцами, вероятно, внесет вклад в расширение знаний о механизмах формирования признака зимостойкости у злаков и тем самым поможет решить поставленную задачу: повысить зимостойкость изучаемой группы озимых злаков краснодарской селекции до уровня, требуемого в условиях Сибири. В практике яровые сорта, фенотипически очень близкие к исходным озимым сортам, можно использовать, в частности, для пересева весной участков погибших посевов озимых сортов (Федоров, 1959). Возможная природа молекулярно-генетических процессов, которые лежали в основе наблюдений, описанных выше, обсуждается в работе (Kozlov, 2017).

Кроме того, существует теоретическая возможность селекции «озимо-яровых» растений в качестве подпокров-ной культуры. Применение таких сортов позволило бы, в частности, сохранить объемы работ, связанных с подготовкой почвы к посеву.

Благодарности

Работа выполнена в рамках государственного задания (проект № 0324-2018-0018). Авторы выражают благодарность академику Л.А. Беспаловой за предоставленные семена.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Большев Л.Н., Смирнов Н.В. Таблицы математической статистики. М.: Наука, 1983.
- Козлов В.Е. Связь между морфологией озимой пшеницы и зимостойкостью при изменении содержания рострегулирующих веществ. Роль фитогормонов в проявлении некоторых признаков у растений. Новосибирск: ИГиГ СО АН СССР, 1983а;85-96.
- Козлов В.Е. Динамика активности рострегулирующих веществ в узлах кущения двух сортов озимой пшеницы и их яровых аналогов. Новосибирск: ИГиГ СО АН СССР, 1983б;97-109.
- Козлов В.Е. Сравнение способов получения генетического разнообразия для селекции пшеницы на зимостойкость в условиях Сибири. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2012;16(1): 232-239.
- Миллс Ф. Статистические методы. Ред. П.П. Маслов. М.: Госстатиздат, 1958.
- Сысо А.И., Смоленцев Б.А., Якименко В.Н. Почвенный покров Новосибирского научного центра и его природная и агрохимическая оценка. Сиб. экол. журн. 2010;3:363-367.
- Туманов И.И. Физиология закаливания и зимостойкость растений. М.: Наука, 1979.
- Федоров А.К. Особенности развития зимующих растений. М.: АН СССР, 1959.
- Чекуров В.М., Козлов В.Е. Низкий уровень метаболизма и высокая морозостойкость – важные компоненты выживаемости пшеницы в Сибири. Материалы 1-й Центрально-Азиатской конференции по пшенице (Казахстан, Алматы, 10-13 июня 2003 г.). Алматы, 2003;222.
- Чекуров В.М., Козлов В.Е., Титков И.П., Митрофанов Н.Г. Проблемы и методические подходы к созданию сортов озимой пшеницы для Сибири. Генетические методы в селекции растений. Новосибирск: Наука, 1992;180-210.
- Chekurov V.M., Kozlov V.E. Winter wheat's survival mechanisms in Siberia: Low metabolic rate and high frost tolerance. Ed. A.A. Morgunov, K.G. McHol, R. Campbell, R. Poroda. Increasing Wheat Production in Central Asia through Science and Cooperation. Pros. of the First Central Asia wheat conference. Almaty, Kazakhstan: CIMMYT. 2005;118-121.
- Kozlov V.E. Comparison of methods of obtaining the genetic diversity for the selection of wheat to winter hardiness in Siberia. The International Conference "Wheat Genetic Resources and Genomics", Novosibirsk, Russia, August 28–September 1, 2011. Novosibirsk: Inst. Cytol. Genet., 2011;19.
- Kozlov V.E. Life history plasticity in large winter cereal group and sharp increasing of winterhardiness of flexible ("winter-spring") plants. Беляевские чтения: Международная конференция, посвященная 100-летию со дня рождения академика АН СССР Д.К. Беляева (7–10 августа 2017 г., Новосибирск, Россия): Тезисы докладов = Belyaev conference: A triumphant event in commemoration of the centenary of the birth of Academician Dmitri Belyaev (August 7–10, 2017, Novosibirsk, Russia): Abstracts. Новосибирск: ИГиГ СО РАН, 2017;219.
- Ma J.F., Taketa S., Yang Z.M. Aluminum tolerance genes on the short arm of chromosome 3R are linked to organic acid release in Triticale. Plant Physiol. 2000;122:687-694.
- Ruttan V.W. The transition to agricultural sustainability. Proc. Natl. Acad. Sci. 1999;96(11):5960-5967. DOI 10.1073/pnas 96.11.5960.

Морфогенетический потенциал сортов картофеля сибирской селекции в культуре *in vitro*

С.М. Ибрагимова¹✉, А.В. Романова¹, Г.Х. Мызгина², А.В. Кочетов^{1, 2, 3, 4}

¹ Федеральное исследовательское учреждение Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Сибирский научно-исследовательский институт растениеводства и селекции – филиал ИЦиГ СО РАН, Новосибирская область, Новосибирский район, пос. Краснообск, Россия

³ Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

⁴ Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия

Картофель – одна из важнейших пищевых культур в мире, подвержен поражению вирусами, грибами, бактериями, что снижает его урожайность и приносит большой экономический ущерб. Достижения современной биотехнологии позволяют создавать устойчивые сорта растений, для которых традиционные методы селекции затруднены, путем модификации их генома. Необходимы эффективные и воспроизводимые методики регенерации картофеля в культуре *in vitro*. Три сорта сибирской селекции Тулеевский, Кемеровчанин, Сафо и два контрольных сорта Голубизна и Никитинский использовали в работе в качестве модельных для оценки их морфогенетического потенциала в культуре *in vitro*. Экспланты стебля получали от растений, выращенных *in vitro* в пробирках. Стеблевые экспланты исследуемых сортов культивировали на основной среде Мурасиге–Скуга с добавлением 1 мг/л транс-зеатина, 0.1 мг/л индолилуксусной кислоты, 10 мг/л гиббереллина и витаминов (среда P1). Все этапы культивирования, вплоть до получения полноценных растений-регенерантов, проводили на среде P1. Каждые две недели экспланты переносили на свежие питательные среды. Все сорта формировали каллус, но различались по срокам каллусообразования и типу формируемого каллуса. При дальнейшем культивировании сортов на среде того же состава наблюдали морфогенез – образование побегов на раневых поверхностях экспланта. Высокую регенерационную способность проявили сорта Тулеевский, Кемеровчанин и Голубизна (73–97.7 %), низкую – сорт Сафо (63 %). Обнаружен внутрисортной полиморфизм по способности к регенерации у сибирских сортов. Регенеранты укоренялись на среде Мурасиге–Скуга, без добавления фитогормонов на седьмой день культивирования. В контроле (на среде без добавления фитогормонов) стеблевые экспланты всех пяти сортов не формировали каллус и не развивали побеги на раневых поверхностях. Предлагаемый способ индукции морфогенеза в культуре *in vitro* у картофеля прост, эффективен и может быть использован для других сортов.

Ключевые слова: картофель; *Solanum tuberosum* L.; сорта; стеблевые экспланты; морфогенез *in vitro*; биотехнология; селекция.

The morphogenic potential of Siberian potato cultivars in tissue cultures

S.M. Ibragimova¹✉, A.V. Romanova¹, G.Kh. Myzgina², A.V. Kochetov^{1, 2, 3, 4}

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Siberian Research Institute of Plant Production and Breeding – Branch of the Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Krasnoobsk, Novosibirsk region, Russia

³ Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

⁴ Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia

Potato is an important crop widely cultivated throughout the world. It is prone to several pathogenic fungi, viruses, and bacteria, which cause severe economic loss every year. Recent advances in plant biotechnology have made it possible to produce resistant cultivars by plant genome editing. This approach allows crop modifications that would be difficult to obtain by conventional breeding techniques. A successful and reproducible plant system requires a responsive *in vitro* regeneration system. Three Siberian potato cultivars – Kemerovchanin, Tuleevsky, and Sapho – and two control cultivars – Golubizna and Nikulinsky – were chosen for *in vitro* response tests. The stem explants were excised from *in vitro* grown plantlets. Their stem explants were incubated on Murashige & Skoog (MS) medium supplemented with 1 mg/L *trans*-zeatin, 0.1 mg/L IAA, and 10 mg/L GA₃ with vitamins (medium P1). All the stages of cultivation up to obtaining full-fledged regenerant plants were carried out on medium P1. Every two weeks the explants were transferred to fresh nutrient media. All cultivars formed calluses but differed in terms of callus formation and in callus type. With further cultivation on the medium of the same composition, morphogenesis was observed: shoots formed on wound surfaces of the stem explants. Cultivars Tuleevsky, Kemerovchanin, and Golubizna showed high regeneration ability (73–97.7 %), while that of Sapho (63 %) was poor. All the Siberian cultivars were variable with regard to their morphogenic potentials. Root formation was observed in the shoots within 7 days on hormone-free MS. In the control (hormone-free medium), stem explants of all cultivars did not form calluses or develop shoots on the wound surfaces. The protocol described here is simple and efficient. It can be applied to other potato cultivars.

Key words: potato; *Solanum tuberosum* L.; cultivars; stem explants; regeneration *in vitro*; biotechnology; breeding.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Ибрагимова С.М., Романова А.В., Мызгина Г.Х., Кочетов А.В. Морфогенетический потенциал сортов картофеля сибирской селекции в культуре *in vitro*. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(3):316-320. DOI 10.18699/VJ18.366

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Ibragimova S.M., Romanova A.V., Myzgina G.Kh., Kochetov A.V. The morphogenic potential of Siberian potato cultivars in tissue cultures. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(3):316-320. DOI 10.18699/VJ18.366 (in Russian)

УДК 635.21:631.524.5

Поступила в редакцию 10.01.2018

Принята к публикации 04.03.2018

© АВТОРЫ, 2018

Современные достижения в биотехнологии позволяют создавать новые формы растений, влияя на агрономические и хозяйственно ценные показатели различных культур, улучшение которых ограничено генетическими особенностями вида.

Картофель – одна из важнейших сельскохозяйственных культур в мире, продукт с высокой питательной ценностью, второй хлеб. Он поражается многочисленными вредителями и болезнями, что делает его важным объектом для генетических исследований. Стерильность, тетраплоидность в сочетании с высоким уровнем гетерозиготности снижают эффективность применения традиционных методов селекции в отношении культурного картофеля *Solanum tuberosum* L. (Muthoni et al., 2015). Обогащение сортового разнообразия культурного картофеля *S. tuberosum* L. гермоплазмой диких видов рода ограничено ввиду наличия барьеров несовместимости на разных этапах гибридизации (Гавриленко, Ермишин, 2017).

Методы биотехнологии растений (соматическая гибридизация, трансгенез, геномное редактирование) являются эффективными способами преодоления барьеров нескрещиваемости, ускорения создания новых источников гермоплазмы картофеля, которые в дальнейшем можно вовлекать в селекционный процесс (Barrell et al., 2013; Andersson et al., 2017). В основе современных биотехнологических методов лежит тотипотентность – уникальное свойство растительной клетки, способность реализовать генетическую информацию и развить целое растение в культуре *in vitro* из отдельного органа или же ткани (Бутенко, 1970). При этом для каждого из исследуемых видов растений необходимо знать условия реализации уникального свойства растительной клетки на практике.

Семейство Пасленовые (*Solanaceae* L.), к которому наряду с такими модельными объектами, как табак и петуния, относится картофель, обладает высоким морфогенным потенциалом в культуре *in vitro* (Gebhardt, 2016). У сортов культурного вида картофеля *S. tuberosum* L. получены растения-регенеранты практически из всех органов: из черешков листа (Yee et al., 2001), листовых пластинок (Andersson et al., 2003; Banerjee et al., 2006), стеблевых эксплантов (Kaur et al., 2017), клубневых дисков (Vasquez, Clarence, 2002), протопластов (Ehsanpour, Jones, 2001; Craig et al., 2005).

Однако существует немало сложностей при индукции морфогенеза у картофеля в культуре *in vitro*. Они определяются генетическими особенностями сорта, возрастом растения, выбором экспланта, компонентами питательной среды, соотношением ростовых гормонов, условиями культивирования, временем года (Hussain et al., 2005).

Важную роль при культивировании органов и тканей растения имеет выбор экспланта. Еще в первых работах по трансформации картофеля было показано преимущество стеблевых эксплантов (междоузлий) по сравнению с листовыми. У стеблевых эксплантов быстрее происходят процессы каллусообразования и регенерации (DeBlock, 1988), а также успешно проходит трансформация (Beaujean et al., 1998). Экспланты листьев, в силу своего анатомического строения, более нежны и сильно повреждаются в процессе культивирования, процессы каллусообразования и регенерации у них более длительные,

часто наблюдается соматическая изменчивость (Larkin, Scowcroft, 1981).

В мировой практике для выполнения генно-инженерных работ в качестве сортов-моделей используют такие сорта картофеля, как Desiree, Russet Burbank, Bintje, обладающие высокой регенерационной способностью в культуре *in vitro*. Среди отечественных сортов в качестве модельных чаще всего используют сорта Юбилей Жукова, Жуковский ранний, Скороплодный, Голубизна, Невский, Никулинский. Сорт Голубизна отмечен как обладающий высоким морфогенетическим потенциалом в культуре *in vitro* (Стародубцева и др., 2004). Информация о морфогенетическом потенциале сортов сибирской селекции и их использовании в генно-инженерных работах в известной нам литературе отсутствует. Чаще всего освещаются вопросы получения оздоровленного безвирусного картофеля, микроклубней *in vitro*, в связи с низким уровнем качества семенного материала исследуется влияние различных фитогормонов на ризогенез у пробирочных растений картофеля (Гусева и др., 2013; Артюхова, Киргизова, 2014).

Цель настоящей работы – исследование морфогенетического потенциала сортов картофеля сибирской селекции в процессе культивирования стеблевых эксплантов пробирочных растений в культуре *in vitro*, выявление перспективных сортов для выполнения генно-инженерных работ.

Материал и методы

Растительный материал включал пять сортов картофеля отечественной селекции: Никулинский и Голубизна из сортовой коллекции *in vitro* ФИЦ ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск) и сорта сибирской селекции Тулеевский, Кемеровчанин и Сафо из сортовой коллекции *in vitro* СибНИИРС (пос. Краснообск, Новосибирская область). Исследуемые сорта оценивали по способности к регенерации в культуре *in vitro*. Исходные растения, свободные от вирусной и виroidной инфекции, культивировали в асептических условиях в культуре *in vitro* при температуре 20 ± 2 °C и освещенности 8000 люкс. При подготовке материала верхушечный побег длиной 2.5–3 см помещали в пробирку размером 200 × 23 мм и культивировали на среде Мурасиге–Скуга (далее – МС) (Murashige, Skoog, 1962). К основной среде МС добавляли 20 г/л сахарозы и 6 г/л агар и культивировали в течение трех-четырех недель, до формирования растения. Пробирки закрывали ватно-марлевыми пробками. Для каждого сорта в каждом варианте опыта выращивали не менее 30 пробирочных растений, для получения не менее 100 эксплантов. Эксперименты повторяли дважды в период с апреля по июль. Все процедуры культивирования исходного материала проводили согласно общепринятым методикам (Першина, 2005).

Подготовка эксплантов. Использовали стеблевые экспланты верхних трех-четырех междоузлий пробирочных растений. Кусочки стебля длиной 6–8 мм, без пазушной почки, нарезали скальпелем. Вдоль экспланта наносили надрез тонким скальпелем глубиной 0.5–1 мм, пораненной поверхностью экспланты раскладывали на среду в чашки Петри (100 × 20 мм).

Состав питательных сред для индукции морфогенеза. Для индукции морфогенеза у изучаемых сортов

использовали состав среды, разработанный для картофеля во Всероссийском НИИ картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха с некоторыми модификациями (Бутенко и др., 1984). В среду P1, на основе питательной среды МС, добавляли 20 г/л сахарозы, 1 мг/л транс-зеатина (trans-zeatine, Sigma), 0.1 мг/л индолилуксусной кислоты (3-indoleacetic acid, Sigma), 10 мг/л гиббереллина (gibberellic acid, Sigma), 6 г/л агара (agar type E, Sigma), а также витамины: 1 г/л тиамина и по 0.5 г/л пиридоксина и никотиновой кислоты (аптечный вариант); pH среды до автоклавирования 5.7–5.8. Стерильные растворы фитогормонов добавляли в среду P1 после ее автоклавирования. Каждые две недели экспланты переносили на свежие питательные среды. После появления признаков каллусообразования экспланты переносили в плоскодонные колбы с ватно-марлевыми пробками. Полностью регенерировавшие растения размером от 1 до 3 см укореняли в пробирках, на базовой среде МС с добавлением 20 г/л сахарозы и 6 г/л агара, без добавления фитогормонов для укоренения.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

Исследуемые сорта внесены в Государственный реестр сортов России (<http://reestr.gossort.com>). Они различались между собой по срокам созревания: все три сорта сибирской селекции – Тулеевский, Кемеровчанин, Сафо, а также сорт Голубизна относятся к сортам среднераннего созревания, сорт Никулинский – среднепозднего срока созревания.

С целью оценки объемов необходимого для выполнения исследований материала был проведен морфометрический анализ пробирочных растений используемых в работе сортов. Сорта различались между собой по числу формируемых междоузлий, их длине, а также по числу листьев. Полученные данные приведены в табл. 1.

Стеблевые экспланты всех пяти сортов не формировали каллус и не развивали морфогенные структуры на раневых поверхностях на среде МС без добавления фитогормонов. У всех изученных сортов морфогенезу предшествовала стадия каллусообразования.

Рассматриваемые сорта оказались чувствительными к экзогенным гормонам, содержащимся в среде P1. Каллус вначале формировался на одном из концов стеблевого экспланта. У некоторых эксплантов на более поздних этапах культивирования каллус формировался и на другом конце. Наиболее интенсивно каллусообразование происходило у сортов среднераннего срока созревания (Голубизна, Сафо, Кемеровчанин, Тулеевский) и составляло 100 % от общего количества эксплантов в эксперименте. У среднепозднего сорта Никулинский интенсивность каллусообразования была несколько ниже – 85 % (табл. 2).

Межсортные различия наблюдали по срокам формирования первичного каллуса. У среднеранних сортов каллусообразование начиналось на 7–8-й день от начала культивирования на среде P1, у сорта Никулинский – на 21–28-й день. Интенсивное каллусообразование у среднеранних сортов наблюдалось на 30–35-й день от начала культивирования, у позднеспелого сорта Никулинский –

на 40–45-й день. По типу формируемого каллуса сорта различались между собой. Сорта среднераннего срока созревания Сафо, Тулеевский, Кемеровчанин формировали более рыхлый светло-зеленый каллус (рис. 1, а, в), сорт Голубизна – темно-зеленый рыхлый каллус, что соответствует особенностям данного сорта, среднепоздний сорт Никулинский – плотный зеленый каллус.

В процессе культивирования эксплантов каллус становился морфогенным или неморфогенным. Образование морфогенных структур из каллуса у всех изучаемых сортов шло через органогенез: наблюдали образование монополярных структур – побегов, не всегда имеющих на ранних стадиях развития хорошо развитую листовую пластинку (см. рис. 1, б, г). Интенсивное побегообразование у сортов среднераннего срока созревания наблюдали спустя 2.5–3 месяца от начала пассирования эксплантов на среду P1 (рис. 2, б–г), у среднепозднего сорта Никулинский – через 3–3.5 месяца (рис. 2, а). В обоих случаях формировались побеги с нормально развитыми листовыми пластинками.

Наибольшей способностью к индукции морфогенного каллуса на среде P1 среди изученных сортов отличались Голубизна, Кемеровчанин и Никулинский (см. табл. 2). По своей морфогенетической активности сорт Кемеровчанин (96 %) приближался к сортам Голубизна (98 %) и Никулинский (92 %) и достоверно отличался по этому показателю от сортов Сафо (63 %) и Тулеевский (73 %). У всех сортов были получены растения-регенеранты. Из морфогенного каллуса у сортов формировалось от 4 до 12 побегов. Высоким выходом регенерантов характеризовался сорт Кемеровчанин: от одного морфогенного каллуса удавалось получить до 12 растений-регенерантов. По данному показателю сорт достоверно отличался от сортов Голубизна, Никулинский, а также Тулеевского и Сафо (см. табл. 2).

Сорта сибирской селекции – Кемеровчанин, Тулеевский и Сафо – оказались полиморфными по числу образуемых побегов на один эксплант: Кемеровчанин формировал от 2 до 34 побегов, Тулеевский – от 1 до 20, Сафо – от 1 до 15 побегов. Возможно, такой полиморфизм связан с гибридным происхождением исследуемых нами сортов.

Результаты наших исследований показали, что сорта сибирской селекции чувствительны к комбинации фитогормонов, содержащихся в среде P1 для культивирования. При сравнении реакции сортов на культивирование *in vitro* установлено, что все сорта способны к каллусогенезу на среде P1, а частота образования морфогенного каллуса и количество растений-регенерантов определялись генотипическими особенностями сортов. Все полученные регенеранты укоренялись на среде МС, без добавления фитогормонов на 6–7-й день культивирования.

Оптимальным условием для регенерации растений из культивируемых органов и тканей является наличие в среде цитокининов и ауксинов, находящихся в определенном соотношении. У картофеля важную роль в регенерационных процессах играют цитокинины. Морфогенетическая активность разных форм цитокининов – зеатина, зеатинрибозида, транс-зеатина, бензил-аминопурина – показана для различных сортов и эксплантов картофеля (Аветисов, Мелик-Саркисов, 1985; Chakravarty, Wang-Pruski, 2010;

Таблица 1. Характеристика исходных сортов *in vitro*

Сорт	Среднее число междоузлий $\pm$ sd	Средняя длина междоузлий (мм) $\pm$ sd	Среднее число листьев на растении $\pm$ sd
Кемеровчанин	8.1 $\pm$ 0.83	8.5 $\pm$ 4.4	8.4 $\pm$ 1.17
Сафо	5.7 $\pm$ 0.86	10.5 $\pm$ 5.2	6.8 $\pm$ 0.52
Тулеевский	13.2 $\pm$ 1.79	9.9 $\pm$ 3.67	16.2 $\pm$ 2.7
Голубизна	9.4 $\pm$ 1.42	8.1 $\pm$ 2.15	12.6 $\pm$ 0.96
Никулинский	9.6 $\pm$ 0.74	9.4 $\pm$ 2.71	10.9 $\pm$ 1.92

Таблица 2. Морфогенез *in vitro* на среде P1 у сортов

Сорт	Частота, %		Число побегов на один эксплант, $x \pm m$
	каллусогенеза ¹	морфогенеза ²	
Кемеровчанин	100	96.0 $\pm$ 4.3	12.7 $\pm$ 0.74
Сафо	100	63 $\pm$ 12.0*	4.8 $\pm$ 0.38***
Тулеевский	100	73 $\pm$ 10.0*	5.9 $\pm$ 0.36***
Голубизна	100	97.7 $\pm$ 3.2	5.9 $\pm$ 0.09***
Никулинский	85	92 $\pm$ 5.8	4.3 $\pm$ 0.09***

¹ Частоту реакции определяли от общего числа эксплантов; ² частоту реакции определяли от числа эксплантов с каллусами.
* $p < 0.05$; *** $p < 0.001$.

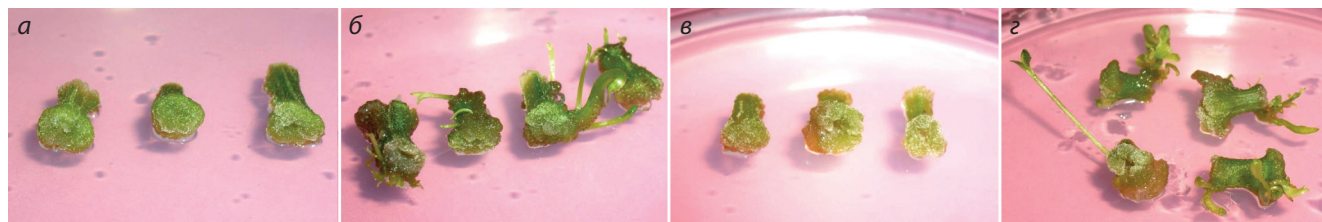


Рис. 1. Образование первичного каллуса и морфогенных структур из стеблевых эксплантов: сорт Кемеровчанин (а, б) и сорт Сафо (в, з).

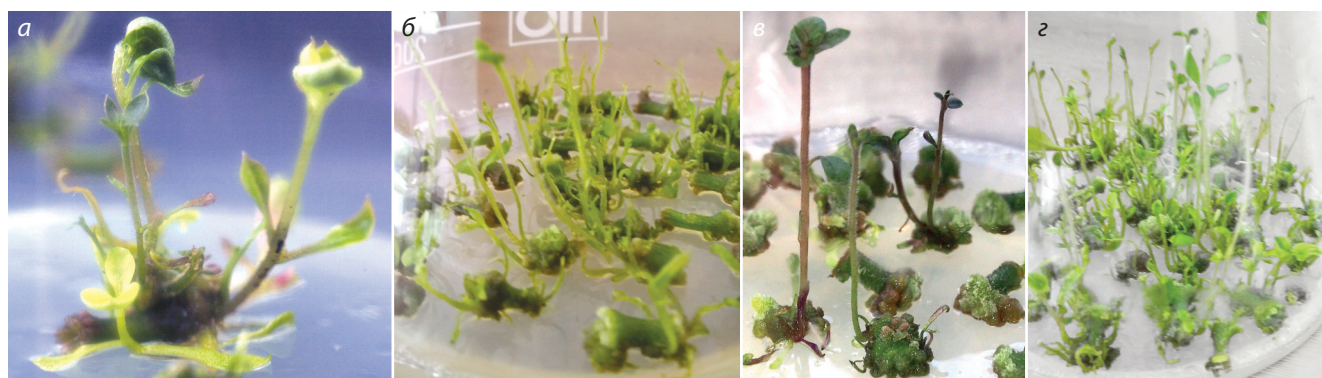


Рис. 2. Регенерация побегов из каллусных культур сортов на среде P1: а – сорт Никулинский; б – Тулеевский; в – Голубизна; з – Кемеровчанин.

Kaur et al., 2017). В наших исследованиях показана активность транс-зеатина в сочетании с гиббереллином и индолилуксусной кислотой в регенерационных процессах для всех пяти изучаемых сортов. Транс-зеатин способствовал формированию хорошо развитых побегов, гиббереллин – их удлинению, индолилуксусная кислота – укоренению. Такое сочетание фитогормонов в среде в различных кон-

центрациях – цитокинины, ауксины и гиббереллины – стимулировало регенерационные процессы у эксплантов других сортов картофеля (Yee et al., 2001; Hussain et al., 2005; Banerjee et al., 2006).

В результате проведенных нами экспериментов впервые изучены особенности морфогенеза в культуре *in vitro* у сортов картофеля сибирской селекции. Показан высокий

морфогенетический потенциал сибирских сортов Кемеровчанин, Тулеевский, а также сорта Голубизна. В литературе отмечается существенная зависимость процесса регенерации в культуре *in vitro* у картофеля от исходного генотипа (Coleman et al., 1990). В настоящем исследовании показана возможность индукции морфогенеза в культуре *in vitro* у всех пяти изучаемых сортов с использованием на всех этапах культивирования только одного типа питательной среды (P1).

Преимуществом данного метода являются: использование пробирочных культур сортов картофеля, что ускоряет получение асептического материала; применение одного типа сред (среда P1) на всех этапах культивирования, вплоть до полного развития полноценных побегов; короткий срок индукции процесса морфогенеза – в среднем от трех до четырех месяцев.

Предложенный способ позволил получить растения-регенеранты у изучаемых сортов. Различия в интенсивности побегообразования могут быть в дальнейшем нивелированы путем модификации состава питательной среды для каждого из сортов. Данный способ индукции морфогенеза в культуре *in vitro* у картофеля может использоваться и для других сортов картофеля.

Благодарности

Работа поддержана Российским научным фондом, грант № 16-16-04073. Полученные растения-регенеранты выращивали в тепличном комплексе ИЦиГ СО РАН (финансируется в рамках бюджетного проекта № 0324-2018-0018).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Аветисов В.А., Мелик-Саркисов О.С. Генотипические особенности морфогенеза в каллусных культурах различных сортов картофеля. С.-х. биология. 1985;3:67-70.

Артюхова С.И., Киргизова И.В. Биотехнологический способ размножения оздоровленного картофеля Западной Сибири микроклубнями в условиях *in vitro*. Соврем. наукоемкие технологии. 2014;12:107-108.

Бутенко Р.Г. Тотипотентность растительной клетки. Культура изолированных органов, тканей и клеток растений. М.: Наука, 1970.

Бутенко Р.Г., Хромова Л.М., Седнина Г.В. Методические указания по получению вариантов клеточных линий и растений у разных сортов картофеля. М.: ВАСХНИЛ, 1984.

Гавриленко Т.А., Ермишин А.П. Межвидовая гибридизация картофеля: теоретические и прикладные аспекты. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(1):16-29. DOI 10.18699/VJ17.220.

Гусева К.Ю., Бородулина И.Д., Мякишева Е.П., Таварткиладзе О.К. Изучение ризогенеза сортов картофеля (*Solanum tuberosum* L.) в культуре *in vitro*. Изв. Алт. ун-та. 2013;1:57-60. DOI 10.14258/izvasu(2013)3.2-13.

Першина Л.А. Основные методы культивирования *in vitro* в биотехнологии растений. Новосибирск: Изд-во Новосиб. ун-та, 2005.

Стародубцева (Камионская) А.М., Белоусова М.Б., Конов А.Л., Скрябин К.Г. Способ получения генетически модифицированных растений картофеля сорта Голубизна с помощью *Agrobac-*

terium tumefaciens. Пат. на изобретение № 2231551 от 27 июня 2004.

Andersson M., Trifonova A., Andersson A.B., Johansson M., Bulow L., Hofvander P. A novel selection system for potato transformation using a mutated AHAS gene. Plant Cell Rep. 2003;22:261-267.

Andersson M., Turesson H., Nicolai A., Fält A.S., Samuelsson M., Hofvander P. Efficient targeted multiallelic mutagenesis in tetraploid potato (*Solanum tuberosum*) by transient CRISPR-Cas9 expression in protoplasts. Plant Cell Rep. 2017;36:117-128. DOI 10.1007/s00299-016-2062-3.

Banerjee A.K., Prat S., Hannapel D.J. Efficient production of transgenic potato (*S. tuberosum* L. ssp. *andigena*) plants via *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation. Plant Sci. 2006;170:732-738. DOI.org/10.1016/j.plantsci.2005.11.007.

Barrell P.J., Meiyalaghan S., Jacobs J.M., Conner A.J. Applications of biotechnology and genomics in potato improvement. Plant Biotechnol. J. 2013;11:907-920. DOI 10.1111/pbi.12099.

Beaujean A., Sangwan R.S., Lecardonnel A., Sangwan-Norreel B.S. *Agrobacterium*-mediated transformation of three economically important potato cultivars using sliced internodal explants: an efficient protocol of transformation. J. Exp. Bot. 1998;49:1589-1595. DOI.org/10.1093/jxb/49.326.1589.

Chakravarty B., Wang-Pruski G. Rapid regeneration of stable transformants in cultures of potato by improving factors influencing *Agrobacterium*-mediated transformation. Adv. Biosci. Biotechnol. 2010;1:409-416. DOI 10.4236/abb.2010.

Coleman M., Waugh R., Powell W. Genetical analysis of *in vitro* cell and tissue culture response in potato. Plant Cell Tissue Organ Cult. 1990;23:181-186.

Craig W., Gargano D., Scotti N., Nguyen T.T., Lao N.T., Kavanagh D.A., Dix H.J., Cardi T. Direct gene transfer in potato: a comparison of particle bombardment of leaf explants and PEG-mediated transformation of protoplasts. Plant Cell Rep. 2005;24:603-611.

DeBlock M. Genotype-independent leaf disc transformation of potato (*Solanum tuberosum*) using *Agrobacterium tumefaciens*. Theor. Appl. Genet. 1988;76:767-774.

Ehsanpour A.A., Jones M.G.K. Plant regeneration from mesophyll protoplasts of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Delaware using silver thiosulfate (STS). J. Sci. I. R. Iran. 2001;12(2):103-110.

Gebhardt C. The historical role of species from the Solanaceae plant family in genetic research. Theor. Appl. Genet. 2016;1(29):2281-2294.

Hussain I., Muhammad A., Chaudhry Z., Asghar R., Naqvi S.M.S., Rashid H. Morphogenic potential of three potato (*Solanum tuberosum*) cultivars from diverse explants, a prerequisite in genetic manipulation. Pak. J. Bot. 2005;37:889-898.

Kaur A.M., Reddy S., Kumar A. Efficient, one step and cultivar independent shoot organogenesis of potato. Physiol. Mol. Biol. Plants. 2017;23:461-469. DOI 10.1007/s12298-017-0418-y.

Larkin P.J., Scowcroft W.R. Somaclonal variation – a novel source of variation from cell cultures for plant improvement. Theor. Appl. Genet. 1981;60:197-214.

Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 1962;15:473-497. DOI 10.1098/rstb.2000.0713.

Muthoni J., Kabira J., Shimelis H., Melis R. Tetrasomic inheritance in cultivated potato and implications in conventional breeding. Aust. J. Crop Sci. 2015;9:185-190.

Vásquez J.N., Clarence A.R., Jr. The systemin precursor gene regulates both defensive and developmental genes in *Solanum tuberosum*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002;99:15818-15821.

Yee S., Stevens B., Coleman S., Seabrook J.E.A., Li X.-Q. High-efficiency regeneration *in vitro* from potato petioles with intact leaflets. Am. J. Potato Res. 2001;78:151-157.



Влияние чужеродного генетического материала на проявление хозяйственно важных признаков мягкой пшеницы (*T. aestivum* L.)

И.Н. Леонова

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

Одной из актуальных проблем современной генетики и селекции является расширение генетического разнообразия мягкой пшеницы по генам устойчивости к биотическим и абиотическим стрессовым факторам, урожайности и качества зерна. Дикорастущие и культурные родичи с различным уровнем гомеологии геномов постоянно используются для расширения генетического разнообразия мягкой пшеницы по генам, повышающим устойчивость к болезням и вредоносным насекомым. Ведутся работы по поиску и интродукции генетических факторов, влияющих на содержание белка в зерне и компоненты урожайности. Несмотря на то что локусы устойчивости в организме донора оказывают длительную защиту против популяций патогенов, разнообразных по расовому составу, интрогрессия целевых локусов в геном мягкой пшеницы может приводить к значительному снижению эффективности генов, вплоть до полной потери экспрессии. Перенос чужеродных генов от отдаленных видов происходит в составе целых хромосом, хромосомных плеч либо протяженных транслоцированных фрагментов, которые вместе с целевыми локусами могут содержать дополнительный генетический материал, оказывающий влияние на другие хозяйственно ценные признаки. Поэтому при интродукции генов устойчивости к болезням в коммерческие сорта пшеницы важно учитывать эффекты чужеродных замещений и транслокаций на такие признаки, как тип развития, время колошения, продуктивность, качество зерна, хлебопекарные качества. Негативные эффекты, наблюдаемые при интрогрессии генов от видов с отдаленными геномами, принято связывать с чужеродным хроматином, который переносится вместе с целевым локусом. Однако во многих случаях такие эффекты могут быть результатом влияния генотипической среды реципиента. Публикации, в которых приводятся результаты сравнительной оценки сортов и селекционных линий с чужеродными замещениями и транслокациями, не всегда позволяют однозначно ответить на этот вопрос. В настоящей статье представлен обзор литературных данных по влиянию чужеродных интрогрессий на хозяйственно важные признаки мягкой пшеницы.

Ключевые слова: мягкая пшеница; интрогрессии; дикорастущие сородичи; гены устойчивости к болезням; хозяйственно важные признаки; генотипическая среда.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Леонова И.Н. Влияние чужеродного генетического материала на проявление хозяйственно важных признаков мягкой пшеницы (*T. aestivum* L.). Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(3):321–328. DOI 10.18699/VJ18.367

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Leonova I.N. Influence of alien genetic material on the manifestation of agronomically important traits of common wheat (*T. aestivum* L.). Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(3): 321–328. DOI 10.18699/VJ18.367 (in Russian)

Influence of alien genetic material on the manifestation of agronomically important traits of common wheat (*T. aestivum* L.)

I.N. Leonova

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

Broadening of the genetic diversity of common wheat with respect to genes for resistance to biotic and abiotic stress factors, yield and grain quality is one of the urgent problems of modern genetics and breeding. Wild wheat relatives with diverse levels of the genome homoeology are regularly used for widening the genetic diversity of common wheat for genes that increase disease and insect resistance. Studies on the search and introduction of genetic factors determining the grain protein content and yield are also important. Although resistance genes have a prolonged protective effect on donor plants against diverse populations of pathogens, the introgression of target loci into the genome of common wheat can result in a significant decrease in the efficiency of the genes – up to complete loss of expression. Additionally, alien gene introgression from wild relatives occurs through whole chromosome or chromosome arm substitutions, or long translocated fragments that, together with target loci, may contain genetic material that affects other agronomically important traits. Therefore, when introducing disease resistance genes into elite wheat varieties, it is important to take into account the effects of alien substitutions and translocations on such traits as the growth habit, heading date, yield potential, grain and baking quality. Adverse effects observed with gene introgressions from wild species are commonly associated with foreign chromatin linked with target loci. However, in many cases, such effects can be the result of the genetic background of the cultivar-recipient. This article presents an overview of published data on the effect of alien introgressions on agronomically important traits of common wheat.

Key words: common wheat; introgressions; wild wheat relatives; disease resistance genes; agronomically important traits; genetic background.



Мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.) по продуктивным и кормовым качествам относится к наиболее ценным сельскохозяйственным культурам и входит в число основных продуктов питания для большинства населения земного шара. В связи со стремительным увеличением численности населения планеты актуальным становится повышение объемов сельскохозяйственной продукции, в том числе производства зерна, для удовлетворения растущих потребностей. Увеличение валового сбора зерна может происходить за счет расширения посевных площадей и повышения уровня интенсификации сельскохозяйственного производства. Одним из эффективных способов является создание новых сортов, адаптивных к различным агроэкологическим условиям, у которых высокий потенциал урожайности сочетается с устойчивостью к биотическим (грибные болезни, насекомые-вредители) и абиотическим (засоление, влагообеспеченность, засуха и высокие температуры) стрессовым факторам.

Урожайность пшеницы в значительной степени зависит от степени восприимчивости растений к возбудителям грибных болезней. В Российской Федерации доминирующее положение занимают возбудители бурой ржавчины (*Puccinia triticina* Eriks.), стеблевой ржавчины (*Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici*), мучнистой росы (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*), септориоза (*Mycosphaerella graminicola*, син. *Septoria tritici*; *Parastagonospora nodorum*, син. *Stagonospora nodorum*). Ежегодные потери урожая от этих болезней составляют от 5 до 15 %, а в периоды, благоприятные для развития патогенов, могут превышать 40 % (Афанасенко, 2010; Коломиец и др., 2017).

Для создания устойчивых к болезням сортов необходимы источники генов резистентности, среди которых пристальное внимание уделяют родичам мягкой пшеницы, поскольку многие из них отличаются низким уровнем восприимчивости к болезням. Дикорастущие и культурные виды используют преимущественно для расширения генетического разнообразия по генам устойчивости к биотическим стрессовым факторам (Kazi et al., 2013). Значительная часть эффективных генов, детерминирующих устойчивость к болезням ржавчины (гены *Lr* и *Sr*), интродуцирована в геном мягкой пшеницы от видов *Triticum tauschii* (син. *Ae. tauschii*) (*Lr21*, *Lr22a*, *Lr32*, *Lr41*, *Lr42*, *Sr33*), *T. dicoccoides* (*Lr53*, *Lr64*), *T. timopheevii* (*Lr18*, *Lr50*, *LrTt1*, *LrTt2*, *Sr36*, *Sr37*, *Sr40*), *Aegilops* ssp. (*Lr9*, *Lr28*, *Lr35*, *Lr37*, *Lr47*, *Lr51*, *Lr57*, *Lr58*, *Lr66*, *LrAsp5*, *Sr38*, *Sr39*, *Sr47*, *Sr51*, *SrAes7t*), *Thinopyrum* ssp. (*Lr19*, *Lr24*, *Lr29*, *Lr38*, *Lr6Ai#2*, *Sr24*, *Sr25*, *Sr26*, *Sr44*), *Secale cereale* (*Lr25*, *Lr26*, *Sr31*, *Sr50*) (Leonova et al., 2010; Adonina et al., 2012; McIntosh et al., 2013; Salina et al., 2015). Проводятся работы по поиску и интродукции локусов, влияющих на более сложные признаки, такие как содержание белка в зерне, вес 1000 зерен (Grandillo et al., 2007; Zhang et al., 2015).

Эффективность использования родичей в качестве источников генов резистентности и других хозяйственно важных признаков зависит от гомеологии их геномов. Наиболее плодотворные результаты по переносу чужеродных генов были получены прямой гибридизацией мягкой пшеницы с представителями первичного (напри-

мер, *T. monococcum* L., *Ae. tauschii* Coss, *T. spelta* L., *T. compactum* Host., *T. durum* Desf., *T. dicoccum* (Schränk.) Schuebl.) и вторичного (*T. timopheevii* Zhuk., *T. araraticum* Jakubz., *Ae. speltooides* Tausch, *Ae. sharonensis* Eig, *Ae. longissima* Schw. et Musch) генофондов, содержащих геномы с высокой или частичной гомологией с геномами А, В и Д мягкой пшеницы (Chaudhary et al., 2014). При таких скрещиваниях наблюдается рекомбинация по гомологичным участкам хромосом, в результате чего размер чужеродного фрагмента может существенно сократиться. В случаях, когда используются виды из третичного генофонда, у которых геномы не гомологичны геномам мягкой пшеницы (*Thinopyrum* ssp., *Secale*, *Elymus*), происходит перенос целых хромосом, хромосомных плеч и в редких случаях терминальные транслокации (Liu et al., 2013; Silkova et al., 2017). Прямая гибридизация мягкой пшеницы с представителями третичного генофонда малоэффективна для интрогрессии целевых генов, при этом гибриды первого поколения отличаются цитологической нестабильностью и стерильностью. В таких случаях необходимо привлечение дополнительных физических и генетических методов для инициации хромосомных разрывов и получения транслокаций. Несмотря на высокую эффективность чужеродных генов для создания индуцированного иммунитета, только небольшое их число находит практическое применение (см. таблицу).

В большинстве случаев перенос чужеродного генетического материала в скрещиваниях мягкой пшеницы с дикорастущими и культурными родичами происходит большими фрагментами, которые кроме целевых локусов могут содержать дополнительный генетический материал, оказывающий влияние на другие признаки. Поэтому при интродукции генов устойчивости к болезням в коммерческие сорта и селекционные линии пшеницы важно учитывать эффекты чужеродных замещений и транслокаций на хозяйственно ценные признаки. Негативные эффекты, наблюдаемые при интрогрессии генов, могут возникать не только в связи с присутствием фрагментов чужеродного генома, но и в результате влияния генотипической среды сорта-реципиента. Как правило, вычленив тот или иной вклад достаточно трудно. В настоящей статье представлен обзор литературных данных по влиянию чужеродных интрогрессий и генотипической среды на проявление признаков у мягкой пшеницы.

Влияние чужеродного генетического материала на проявление хозяйственно ценных признаков

Хорошо изученным примером чужеродных замещений и транслокаций являются формы, полученные от скрещивания пшеницы с рожью *Secale cereale* L., которую издавна используют в качестве донора генов устойчивости к грибным болезням. Оказалось, что среди многих успешных переносов генетического материала ржи в геном пшеницы только две транслокации имеют практическую ценность, причем в обоих случаях в этих транслокациях принимает участие хромосома 1RS. Транслокация 1RS.1BL, перенесенная в пшеницу от сортов ржи Аврора и Кавказ, содержит комплекс генов устойчивости к бурой (*Lr26*), стеблевой (*Sr31*), желтой (*Yr9*) ржавчинам и мучнистой росе (*Pm8*) и используется в основном в сортах европей-

Гены устойчивости к бурой ржавчине (*Lr*) и их использование в коммерческих сортах

Ген-пул	Источник (геном)	Ген	Хромосомная локализация/транслокация или замещение	Использование сортов на практике*
1	<i>Ae. tauschii</i> (D)	<i>Lr21</i>	1DL	Ограниченно**: сорта Sakha, Gemmeiza, Sids, Giza, Misr (Египет); AC Cora (США); селекционные линии KS86WGRC02, KS89WGRC07, KS92WGRC15 (США)
		<i>Lr22a</i>	2DS	Ограниченно: AC Minto (Канада)
		<i>Lr32</i>	3D	Не используется
		<i>Lr39</i>	2DS	»
		<i>Lr42</i>	1DS	»
	<i>T. turgidum</i> (AB)	<i>Lr14a</i>	7BL	Ограниченно: Vona, Victory, Pioneer 2157, Scout (США); WL711, Sonalika (Индия); Gala, Spica, (Австралия); Minter, Regent (Канада)
		<i>Lr23</i>	2BS	Широко: в сортах Австралии, Европы, Америки, Индии, Африки, Мексики, России
	<i>T. dicoccoides</i> (AB)	<i>Lr64</i>	6A	Не используется
2	<i>Ae. speltoides</i> (S)	<i>Lr28</i>	4AL/4AS-4AL.7S#2	Ограниченно: Sunland (Австралия)
		<i>Lr35</i>	2B/2S#2	Не используется
		<i>Lr47</i>	7AS/7AS-7S#1S-7AS-7AL	Ограниченно: Prointa Puntal, Prointa Oasis, Prointa Imperial, MS INTA 416 (Аргентина); Kern, Yecora Rojo, Express (США)
		<i>Lr66</i>	3A/3SS	Не используется
	<i>T. timopheevii</i> (AG)	<i>Lr18</i>	5BL/5BS.5GL	Ограниченно: Coker 983, Terral (Канада); Timvera, Sabikei 12 (Австралия)
	<i>T. araraticum</i> (AG)	<i>Lr50</i>	2BL/2BS.2GL	Ограниченно: Karl 92, TAM 107, Arlin (США)
	3	<i>Th. ponticum</i> (E)	<i>Lr19/Sr25</i>	7DL/7DS.7DL-7Ae#1L
<i>Lr24/Sr24</i>			3DL/3DS-3DL-3Ae#1L 1	Широко: в сортах США, Канады, Индии, Австралии
<i>Lr29</i>			7DS/7DL7-Ae#1L.7Ae#1S	Не используется
<i>Th. intermedium</i> (JES)		<i>Lr38</i>	1DL/1DS.1DL-7Ai#2L 2AL/2AS.2AL-7Ai#2L 3DS/7Ai#2L-3DS.3DL 5AL/7Ai#2L-5AS.5AL 6DL6DS.6DL-7Ai#2L	»
		<i>Lr6Ai#2</i>	6D/6Ai	Широко: Тулайковская 10, Тулайковская 100, Волгоуральская, Лютеценс 101 (Россия)
<i>Ae. ventricosa</i> (DN)		<i>Lr37</i>	2AS/2NS.2AS	Ограниченно: Baguette 10, Baguette 12, Baguette 5 Sur, Baguette 11 Premium (Аргентина); VPM1 (Франция); Морозко (Россия)
<i>Secale cereale</i> (R)		<i>Lr25</i>	4BS/4BS-4BL.2R#1L	Не используется
		<i>Lr26</i>	1B/1RS.1BL	Широко: в сортах США, Канады, Индии, Австралии, России
<i>Ae. umbellulata</i> (U)		<i>Lr9</i>	6BL/6BS.6BL-6U#1L	Широко: Coker, Terral, McNair, Sullivan (США, Канада); Тулеевская, Александрина, Дуэт, Челяба 2, Челяба юбилейная, Немчиновская 17 (Россия)

* На основании информации из (McIntosh et al., 1995; Friebe et al., 1996; Volkova et al., 2010; Kazi et al., 2013; Tomar et al., 2014; Тюнин и др., 2017; <http://maswheat.ucdavis.edu/>).

Ограниченно**: Сорта и селекционные линии используются как источники и доноры генов *Lr*.

ского происхождения (Schlegel, Korzun, 1997; Rabinovich, 1998).

Помимо устойчивости к грибным патогенам, наличие хромосомы 1RS повышает адаптивность к условиям внешней среды, увеличивает биомассу и урожайность (Ehdaie et al., 2003; Kumlay et al., 2003; Kim et al., 2004; Ren et al., 2012). С использованием изогенных линий, содержащих сегменты 1RS хромосомы различной протяженности, было показано, что генетические локусы, оказывающие положительный эффект на урожай, распо-

ложены в дистальном районе (Howell et al., 2014). Присутствие пшенично-ржаной транслокации в сортах отечественной селекции, кроме комплексной устойчивости к листовым патогенам, оказывает положительное влияние на урожайность и содержание белка в зерне (Белан и др., 2010; Дружин и др., 2011). Однако большинство работ свидетельствует о негативном влиянии хромосомы 1RS на хлебопекарные качества, упругость теста, SDS-объем и твердозерность (Lee et al., 1995; Kumlay et al., 2003; Chumanova et al., 2014). Низкие технологические качества

муки и теста связывают частично с наличием ω -секалинов ржи и отсутствием глютеинов пшеницы, гены которых локализованы в хромосоме 1BS (Burnett et al., 1995; Li et al., 2016b).

Транслокация 1RS.1AL, полученная с участием ржи сорта Амиго, содержит гены устойчивости к злаковой тле (*Gb2*), мучнистой росе (*Pm17*) и стеблевой ржавчине (неизвестный ген) и используется преимущественно в американских сортах. Для этой транслокации установлено, что она не только не оказывает негативного эффекта на агрономические признаки, но и во многих случаях может повышать засухоустойчивость, содержание белка в зерне, улучшать хлебопекарные качества (McIntosh et al., 1995; Kim et al., 2004; Hoffmann, 2008). Более значимый положительный эффект транслокации 1RS.1AL по сравнению с 1RS.1BL был продемонстрирован на серии дителосомных, замещенных и транслоцированных пшенично-ржаных линий, содержащих хромосому 1RS (Kumlay et al., 2003). Оценка вклада отдельных пшеничных и ржаных плеч первой группы хромосом показала, что транслокация 1RS в хромосому 1AL более предпочтительна по сравнению с 1BL с точки зрения селекционных качеств.

Другие пшенично-ржаные транслокации, такие как T3AS.3RS с геном *Sr27*, T4BS.4BL-5RL с геном *Lr25*, T6BS.6RL с геном *Pm20*, T2AS-2RS.2RL с геном *Lr45* и ряд линий с транслокацией T2BS.2RL, содержащей locus устойчивости к гессенской мухе, слабо используются в селекции из-за негативных эффектов на агрономические признаки (McIntosh et al., 1995; Friebe et al., 1996). В то же время присутствие транслокации T2BS.2RL в геноме селекционных линий пшеницы повышает засухоустойчивость, увеличивает число колосков в колосе, не снижая при этом урожайность и содержание белка в зерне (Merker, Forsstrom, 2000; Hysing et al., 2007).

Разнонаправленное влияние на агрономические признаки оказывает полное замещение пшеничных хромосом на ржаные и добавление ржаного генома, как, например, в случае гекса- (AABBRR) и октоплоидных (AABBDDRR) тритикале. Добавление ржаного генома повышает неприхотливость тритикале к почвенным условиям, увеличивает продуктивность и толерантность к биотическим и абиотическим стрессорам по сравнению с пшеницей, однако, как и в случае пшенично-ржаных транслокаций, при этом страдает качество зерна и его хлебопекарные свойства (Гордей, 1992).

Что касается генов, унаследованных от других родичей, то лишь для некоторых из них детально исследовалось влияние чужеродного генетического материала на агрономические признаки. Много внимания было уделено изучению линий с генами *Lr19* и *Sr25*, унаследованными в составе фрагмента хромосомы 7E *Thinopyrum ponticum* (син. *Agropyron elongatum*). Ген *Lr19* обладает высокой эффективностью к широкому спектру изолятов патогена бурой ржавчины повсеместно. Однако в свое время он не был использован для улучшения сортов, поскольку чужеродный фрагмент дополнительно содержит ген *Y*, определяющий желтую окраску муки. Попытки получить образцы без гена *Y* активно предпринимались, но транслоцированные линии отличались нестабильным характером наследования генов резистентности. Разделить гены

Lr19/Sr25 и ген *Y* удалось при использовании делеционных по локусу *ph1b* линий, в результате чего были получены рекомбинанты с чужеродными фрагментами различной длины и подобраны маркеры, пригодные для выявления генов *Lr19/Sr25* и *Y* (Marais, 1992; Zhang et al., 2005).

В работах, где проводилась оценка влияния гена *Lr19* на урожайность и качество зерна, показано, что негативное влияние на эти признаки незначительно как в периоды эпифитотий, так и в периоды низкой нагрузки патогена (McIntosh et al., 1995; Šliková et al., 2003). Например, многолетние наблюдения за сортообразцами Л503, Самсар, Пысар 29 и Л359R с геном *Lr19* свидетельствуют, что они отличаются более высокой продуктивностью и содержанием белка по сравнению с исходным сортом Саратовская 29 (Крупнов, Сибикеев, 2005).

Для другого гена устойчивости к бурой ржавчине, *Lr24*, также унаследованного от *Th. ponticum*, не выявлено значительных негативных эффектов в отношении признаков урожайности. Поэтому, несмотря на появление вирулентных рас патогена и снижение эффективности *Lr24*, он до сих пор используется для улучшения коммерческих сортов в Австралии, Индии, Восточной Европе и России (Vida et al., 2009; Tomar et al., 2014; Тюнин и др., 2017).

Источником эффективных генов устойчивости к грибным болезням является вид пырея *Thinopyrum intermedium*, от которого в геном коммерческих сортов мягкой пшеницы перенесена хромосома 6Ai#2, содержащая комплекс генов резистентности к бурой и стеблевой ржавчине и мучнистой росе (Salina et al., 2015). Сорта мягкой пшеницы Тулайковская 10, Тулайковская золотистая, Тулайковская 100, Волгоуральская с генетическим материалом 6Ai#2 имеют длительную устойчивость к популяциям бурой ржавчины, специфичным для европейской части России, Уральского и Западно-Сибирского регионов (Плахотник и др., 2014; Leonova et al., 2017a). Несмотря на полное замещение хромосомы 6D на хромосому 6Ai#2, для этих сортов характерны высокие показатели урожайности, засухоустойчивость и хорошие хлебопекарные качества (Volkova et al., 2010). Однако использование сорта Тулайковская 10 в качестве донора генов устойчивости показывает, что среди потомства, содержащего хромосому 6Ai#2, выявляются образцы, у которых наблюдается снижение числа продуктивных побегов и массы 1 000 зерен (Стасюк и др., 2017).

Виды рода *Aegilops* служат источником эффективных генов устойчивости к болезням ржавчины. Исторически наибольшее внимание для расширения генетического разнообразия мягкой пшеницы привлекает вид *Ae. tauschii*. Связано это с тем, что данный вид является носителем генома D, близкого по гомологии к геному D пшеницы, в котором выявлено много генетических факторов, значимых для селекции (Liu et al., 2015; Arora et al., 2017). Синтетические виды пшеницы, полученные на основе *Ae. tauschii*, регулярно используются для поиска локусов, контролирующих устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам, урожайность и хлебопекарные качества (Ogbonnaya et al., 2013; Ma et al., 2014). Для многих генов, унаследованных от *Ae. tauschii*, известно, что они не снижают урожайность и при этом оказывают положительный эффект на высоту растения, время колошения, количество

белка в зерне. Однако большинство из них не используется на практике для улучшения сортов в связи с низким защитным эффектом в отношении популяций патогенов во многих регионах мира (см. таблицу) (Pretorius, 1997; Kolmer, Anderson, 2011).

Ген устойчивости к бурой ржавчине *Lr9*, унаследованный от *Ae. umbellulata*, длительное время сохранял эффективность в отношении большинства изолятов патогена во всем мире. Однако, согласно литературным данным, *Lr9* редко встречается в сортах мировой коллекции по сравнению с менее эффективными генами *Lr1*, *Lr3*, *Lr10*, *Lr19*, *Lr20* (Dakoufi et al., 2013). В основном это связано с негативными эффектами на показатели урожайности, что убедительно показано на примере изогенных линий озимой пшеницы, содержащих *Lr9*. При тестировании линий в течение нескольких лет было обнаружено снижение урожайности, продуктивной кустистости, уменьшение числа и массы зерна в колосе на 3–14 % по сравнению с восприимчивым родительским сортом (Ortelli et al., 1996). В тех регионах, где *Lr9* частично эффективен (например, в странах Восточной Европы и в Российской Федерации), этот ген до сих пор используют в селекции.

Имеется незначительное число работ по изучению влияния генов, унаследованных от *T. timopheevii*. Доступная информация свидетельствует о разнонаправленном действии фрагментов хроматина *T. timopheevii* на урожайность и качество зерна. Например, ген *Sr36* (*SrTt1*) использовался в Австралии для повышения устойчивости к стеблевой ржавчине, на его основе созданы сорта Timgalen, Timson, Songlen, Shortim (McIntosh et al., 1995). Наблюдения за этими сортами в течение длительного времени показали, что почти все они отличаются повышенным содержанием белка и более высоким выходом муки. Другой ген – *Sr37* (*SrTt2*), несмотря на его эффективность в отношении расы Ug99, не используют в селекции из-за существенного снижения продуктивности. Отсутствие отрицательного влияния генетического материала *T. timopheevii* и *Ae. tauschii* на компоненты урожайности и качество зерна показано для коллекции иммунных линий сорта Саратовская 29 (*T. aestivum* – *T. timopheevii*/*Ae. tauschii*), при этом некоторые линии превосходили сорт-реципиент Саратовская 29 по таким параметрам, как содержание клейковины, белка и физические свойства теста (Лайкова и др., 2007).

Влияние генотипической среды на проявление признаков устойчивости к грибным болезням

Особенности проявления локусов устойчивости к болезням в значительной степени зависят от генотипической среды сорта-реципиента. Согласно данным, полученным на изогенных линиях и коммерческих сортах, одни и те же чужеродные гены различаются по эффективности в разном генетическом окружении (Pretorius et al., 1990; Ren et al., 2012).

Ряд результатов указывает на снижение уровня экспрессии (вплоть до ее отсутствия) факторов резистентности при интродукции генов в коммерческие сорта. Например, оценка устойчивости к желтой ржавчине (*Puccinia striiformis*), проведенная для 11 сортов мягкой пшеницы, содержащих ген *Yr2*, выявила различный тип реакции; при

этом диапазон различий в баллах по шкале иммунности составлял от 0 до 2 (Singh et al., 1990). В некоторых случаях при интрогрессии чужеродных *Lr* генов в разные сорта наблюдается изменение латентного периода от начала заражения до появления симптомов болезни, изменение числа и размеров пустул, появление некрозов/хлорозов (Pretorius et al., 1990; Kolmer, 1996).

В работе (Dyck, Samborsky, 1974) при изучении аллелей локуса устойчивости к бурой ржавчине *Lr2* было установлено, что ген *Lr2b*, находясь в сорте Prelude, обеспечивал неполное доминирование признака устойчивости при скрещивании с сортом мягкой пшеницы Тэтчер, но был доминантным при скрещивании с сортом Red Bobs. Аллель *Lr2c* в тех же условиях имел рецессивный характер наследования в сорте Тэтчер и доминантный – в сорте Red Bobs. Для гена устойчивости *Lr3* показано, что изоляты *P. trititica* не проявляли вирулентности на линиях сорта Тэтчер, содержащих *Lr3*, но были вирулентны при интродукции *Lr3* в сорт Prelude (Haggag et al., 1973). Линии *T. aestivum*/*T. timopheevii*, полученные на основе сорта Саратовская 29, характеризуются более высоким уровнем устойчивости к бурой ржавчине по сравнению с линиями на основе сорта Целинная 20, несмотря на одинаковый спектр замещений и транслокаций (Leonova et al., 2002).

Зависимость экспрессии генов резистентности от генотипической среды хорошо видна на тестерных изогенных линиях, созданных на разном генетическом фоне для мониторинга вирулентности патогенов листостебельных инфекций. Для экспрессии генов устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr15* и *Sr17*, перенесенных в сорт Chinese Spring, необходима более низкая температура, чем для их проявления в сортах Renown и Norka (McIntosh et al., 1995). Фитопатологическое тестирование изогенных линий с геном *Yr8* свидетельствует, что экспрессия гена модифицируется генотипической средой: наличие *Yr8* в сорте Avocet S дает больше некрозов по сравнению с сортами Chinese Spring или Harrier (Wellings et al., 2009).

Причиной различий в уровне экспрессии факторов резистентности у донора и реципиента может быть присутствие в геноме реципиента других, «минорных», генов либо генов-модификаторов. Известно, что взаимодействие генов резистентности и генов-супрессоров, локализованных в геноме D, значительно снижает эффективность генов устойчивости при их переносе от диплоидных и тетраплоидных видов пшеницы в гексаплоидную. В качестве примера можно привести ген *Sr21*, перенесенный от диплоидного вида *T. monococcum*, и ген *Lr23*, унаследованный от тетраплоидного вида *T. turgidum* (The, Baker, 1975; Kolmer, 1996). Показано, что при переносе этих генов в мягкую пшеницу часть синтетических и инбредных линий оставались восприимчивыми к листовым патогенам из-за подавления факторов резистентности генами-супрессорами. Наличие супрессоров генов резистентности к бурой и стеблевой ржавчине в хромосомах генома D было выявлено в экспериментах по скрещиванию устойчивых форм *T. turgidum* var. *dicoccoides* с восприимчивыми сортами мягкой и твердой пшеницы (Bai, Knott, 1992).

Несмотря на наличие информации о существовании генов-супрессоров, модифицирующих проявление генов резистентности, в настоящее время отсутствуют данные

о генетической основе процесса супрессии. Практически единственным примером является работа по исследованию механизмов супрессии гена устойчивости к мучнистой росе *Pm8*, локализованного на пшенично-ржаной транслокации 1RS.1BL (McIntosh et al., 2011). Изучение супрессии у 1R(1B) замещенных и 1RS.1BL транслоцированных линий указывает на то, что в качестве гена-супрессора выступает *Pm3*, локализованный в хромосоме 1AS. При анализе коэкспрессии генов *Pm3* и *Pm8* в трансгенных растениях табака установлено, что механизм супрессии может заключаться в посттрансляционных взаимодействиях белковых продуктов этих генов, которые препятствуют передаче сигнала для проявления защитной реакции генов (Hurni et al., 2014).

Другой предполагаемой причиной различной экспрессии факторов резистентности у донора и реципиента может быть полигенная природа устойчивости, когда иммунный статус донора определяется наличием нескольких локусов с «главным» и «минорным» эффектами. Поскольку в процессе интродукции «главного» локуса в геном сорта-реципиента «минорные» локусы переносятся редко, это может приводить к снижению уровня резистентности по сравнению с донором. Так, устойчивость интрогрессивных линий *T. aestivum*/*T. timopheevii* варьирует от иммунного до среднеустойчивого в зависимости от числа *Lr*-локусов, перенесенных в геном сорта-реципиента (Leonova et al., 2002; Timonova et al., 2013). В работе по созданию линий пшеницы с интрогрессией от дикорастущего злака *Leymus racemosus* также было показано, что устойчивость к фузариозу образцов, содержащих единичные транслокации, существенно ниже, чем исходной родительской формы (Chen et al., 2005).

Перспективы использования чужеродных генов для создания устойчивых сортов

Создание новых сортов с помощью классических методов селекции не позволяет в полной мере утилизировать генетический потенциал дикорастущих и культурных видов. Для снижения негативных эффектов в первую очередь необходимо создание доноров генов с минимальным размером чужеродного хроматина. За последние 30 лет были разработаны новые биотехнологические подходы, молекулярно-генетические и цитологические методы анализа геномов, которые стали хорошим методическим арсеналом для повышения эффективности традиционной селекции. В литературе существует достаточное число примеров получения транслокационных линий с использованием современных методических подходов (Chen et al., 2005; Liu et al., 2013; Li et al., 2016a). Линии с небольшими фрагментами хроматина характеризуются цитологической стабильностью, более высокой фертильностью и могут быть использованы на следующих этапах селекции для создания пребридинговых форм.

Технология двойных гаплоидов в настоящее время является рутинной процедурой и используется для получения гомозиготных генотипов, начиная с поколения F_1 . Данная технология успешно применяется для ускоренного размножения коммерческих сортов, генетического картирования и интрогрессии целевых локусов (Santra et al., 2017).

Молекулярные маркеры, разработанные для генов устойчивости и фрагментов транслокации, содержащих QTLs, эффективно применяются в схемах маркер-ориентированной селекции, маркер-контролируемого отбора для интрогрессии и пирамидирования генов, получения генотипов с различной длиной фрагментов и ускоренного создания доноров целевых локусов (Chen et al., 2005; Vida et al., 2009; Timonova et al., 2013; Tyagi et al., 2014; Leonova et al., 2017b).

Новым методическим подходом является полногеномный поиск ассоциаций (genome wide association study – GWAS), который позволяет в геномах культивируемых сортов идентифицировать генетические локусы как с главными, так и с минорными эффектами (Gao et al., 2016; Gerard et al., 2017; Muleta et al., 2017). В качестве дополнительного преимущества этого метода отметим детальную информацию по генотипированию сортов и селекционных линий большим числом молекулярных маркеров и возможность применения этих данных для селекции по большому числу признаков. Использование новых методических приемов для анализа генетической архитектуры признаков устойчивости помогает отобрать из мировых коллекций адаптированных сортов формы с пирамидой генов и с комплексной устойчивостью к болезням. Дополнительно с идентификацией новых генетических локусов с помощью ассоциативного картирования отбираются образцы, которые отличаются разнообразием рекомбинационных событий. Такие образцы можно использовать в качестве источников генетических локусов, снижая вероятность появления негативных эффектов.

Таким образом, в условиях значительных сдвигов климатических условий, происходящих в последние десятилетия, возникает потребность в новых, устойчивых к болезням сортах, характеризующихся экологической пластичностью и адаптивностью. Поэтому как никогда актуален вопрос о поисках источников локусов, детерминирующих хозяйственно важные признаки. Дикорастущие и культурные родичи мягкой пшеницы характеризуются большим разнообразием по признакам устойчивости к биотическим и абиотическим стрессовым факторам. В настоящее время становится очевидным, что успешная интрогрессия чужеродного генетического материала при создании адаптированных к различным агроэкологическим условиям пребридинговых линий и сортов требует разработки новых селекционных программ, в которых наряду с классическими методами селекции используются современные биотехнологические и молекулярно-генетические подходы.

Благодарности

Работа подготовлена при поддержке Российского научного фонда (грант № 16-16-00011).

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Афанасенко О.С. Проблемы создания сортов с длительной устойчивостью к болезням. Защита и карантин растений. 2010;3:4-10.
Белан И.А., Россеева Л.П., Трубочеева Н.В., Осадчая Т.С., Дорогина О.В., Жмудь Е.В., Колмаков Ю.В., Блохина Н.П., Крав-

- цова Л.А., Першина Л.А. Особенности хозяйственно ценных признаков линии сорта яровой мягкой пшеницы Омская 37, несущих пшенично-ржаную транслокацию 1RS.1BL. Информ. вестн. ВОГиС. 2010;14(4):632-640.
- Гордей И.А. Тритикале. Генетические основы создания. Минск: Наука и техника, 1992.
- Дружин А.Е., Сибикеев С.Н., Крупнов В.А., Воронина С.А. Создание сортов яровой мягкой пшеницы с устойчивостью к комплексу патогенов методом интрогрессивной селекции. Достижения науки и техники АПК. 2011;1:22-24.
- Коломиец Т.М., Панкратова Л.Ф., Пахолкова Е.В. Сорта пшеницы (*Triticum* L.) из коллекции GRIN (США) для использования в селекции на длительную устойчивость к септориозу. С.-х. биология. 2017;52(3):561-569. DOI 10.15389/agrobiology.2017.3.561rus.
- Крупнов В.А., Сибикеев С.Н. Идентифицированный генофонд растений и селекция. СПб.: ВИР, 2005.
- Лайкова Л.И., Арбузова В.С., Ефремова Т.Т., Попова О.М., Ермакова М.Ф. Оценка продуктивности и качества зерна у иммунных линий мягкой пшеницы сорта Саратовская 29. С.-х. биология. 2007;5:75-85.
- Плахотник В.В., Зеленева Ю.В., Судникова В.П. Источники и высокоэффективные доноры для селекции яровой пшеницы на устойчивость к стрессовым факторам среды. Вopr. соврем. науки и практики. Университет им. В.И. Вернадского. 2014;1(50): 109-113.
- Стасюк А.И., Леонова И.Н., Салина Е.А. Проявление хозяйственно важных признаков у яровых гибридов мягкой пшеницы, отобранных с помощью MAS-технологии при скрещивании озимых сортов с яровыми донорами устойчивости к бурой ржавчине. С.-х. биология. 2017;52(3):526-534. DOI 10.15389/agrobiology.2017.3.526rus.
- Тюнин В.А., Шрейдер Е.Р., Гуляева Е.И., Шайдаюк Е.Л. Характеристика вирулентности популяций *Puccinia triticina* и перспективы использования генов *Lr24*, *Lr25*, *LrSp* в селекции яровой мягкой пшеницы на Южном Урале. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(5):523-529. DOI 10.18699/VJ17.269.
- Adonina I.G., Petrash N.V., Timonova E.M., Christov Yu.A., Salina E.A. Construction and study of leaf rust resistant common wheat lines with translocations of *Aegilops speltoides* Tausch. genetic material. Rus. J. Genet. 2012;48:404-409. DOI 10.1134/S1022795412020020/.
- Arora S., Singh N., Kaur S., Bains N.S., Uauy C., Poland J., Chhuneja P. Genome-wide association study of grain architecture in wild wheat *Aegilops tauschii*. Front. Plant Sci. 2017;8:886. DOI 10.3389/fpls.2017.00886.
- Bai D., Knott D.R. Suppression of rust resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) by D-genome chromosomes. Genome. 1992;35: 276-282. DOI 10.1139/g92-043.
- Burnett C.J., Lorenz K.J., Carver B.F. Effects of the 1B/1R translocation in wheat on composition and properties of grain and flour. Euphytica. 1995;86:159-166. DOI 10.1007/BF00016353.
- Chaudhary H.K., Kaila V., Rather S.A., Badiyal A., Hussain W., Jambwal N.S., Mahato A. Wheat. In: A. Pratap, J. Kumar (Eds.). Alien Gene Transfer in Crop Plants. Vol. 2. Achievements and Impacts. New York: Springer-Verlag, 2014;1-27. DOI 10.1007/978-1-4614-9572-7_1.
- Chen P., Liu W., Yuan J., Wang X., Zhou B., Wang S., Zhang S., Feng Y., Yang B., Liu G., Liu D., Qi L., Zhang P., Friebe B., Gill B.S. Development and characterization of wheat-*Leymus racemosus* translocation lines with resistance to *Fusarium* Head Blight. Theor. Appl. Genet. 2005;111:941-948. DOI 10.1007/s00122-005-0026-z.
- Chumanova E.V., Efremova T.T., Trubacheeva N.V., Arbutova V.S., Rosseeva L.P. Chromosome composition of wheat-rye lines and the influence of rye chromosomes on disease resistance and agronomic traits. Rus. J. Genet. 2014;50(11):1169-1178. DOI 10.7868/S0016675814110034.
- Dakouri A., McCallum B.D., Radovanovic N., Cloutier S. Molecular and phenotypic characterization of seedling and adult plant leaf rust resistance in a world wheat collection. Mol. Breed. 2013;32:663-677. DOI 10.1007/s11032-013-9899-8.
- Dyck P.L., Samborsky D.J. Inheritance of virulence in *Puccinia recondita* on alleles at the *Lr2a* locus for resistance in wheat. Can. J. Genet. Cytol. 1974;16:323-332.
- Ehdaie B., Whitkus R.W., Waines J.G. Root biomass, water-use efficiency, and performance of wheat-rye translocations of chromosomes 1 and 2 in spring bread wheat 'Pavon'. Crop Sci. 2003;43:710-717. DOI 10.2135/cropsci2003.7100.
- Friebe B., Jiang J., Raupp W.J., McIntosh R.A., Gill B.S. Characterization of wheat-alien translocation conferring resistance to diseases and pests: current status. Euphytica. 1996;91:59-87. DOI 10.1007/BF00035277.
- Gao L., Turner M.K., Chao S., Kolmer J., Anderson J.A. Genome wide association study of seedling and adult plant leaf rust resistance in elite spring wheat breeding lines. PLoS One. 2016;11(2):e0148671. DOI 10.1371/journal.pone.0148671.
- Gerard G.S., Börner A., Lohwasser U., Simón M.R. Genome-wide association mapping of genetic factors controlling *Septoria tritici* blotch resistance and their associations with plant height and heading date in wheat. Euphytica. 2017;213:27. DOI 10.1007/s10681-016-1820-1.
- Grandillo S., Tanksley S.D., Zamir D. Exploitation of natural biodiversity through genomics. In: R.K. Varshney, R. Tuberosa (Eds.). Genomics-assisted crop improvement. Dordrecht: Springer, 2007;121-150. DOI 10.1007/978-1-4020-6295-7_6.
- Haggag M.E.A., Samborski D.J., Dyck P.L. Genetics of pathogenicity in three races of leaf rust on four wheat varieties. Can. J. Genet. Cytol. 1973;15:73-82.
- Hoffmann B. Alteration of drought tolerance of winter wheat caused by translocation of rye chromosome segment 1R. Cereal Res. Commun. 2008;36:269-278. DOI 10.1556/CRC.36.2008.2.7.
- Hysing S.C., Hsam S.L.K., Singh R.P., Huerto-Espino J., Boyd L.A., Koeber R.D., Combron S., Jonson J.W., Bland D.E., Liljeroth E., Merker A. Agronomic performance and multiple disease resistance in T2BS.2RL wheat-rye translocation lines. Crop Sci. 2007;47:254-260. DOI 10.2135/cropsci2006.04.0269.
- Howell T., Hale I., Jankuloski L., Bonafede M., Gilbert M., Dubcovsky J. Mapping a region within the 1RS.1BL translocation in common wheat affecting grain yield and canopy water status. Theor. Appl. Genet. 2014;127:2695-2709. DOI 10.1007/s00122-014-2408-6.
- Hurni S., Brunner S., Stirnweis D., Herren G., Peditto D., McIntosh R.A., Keller B. The powdery mildew resistance gene *Pm8* derived from rye is suppressed by its wheat ortholog *Pm3*. Plant J. 2014;79:904-913. DOI 10.1111/tpj.12593.
- Kazi A.G., Rasheed A., Mujeeb-Kazi A. Biotic stress and crop improvement: a wheat focus around novel strategies. In: K. Hakem, P. Ahmad, M. Ozturk (Eds.). Crop Improvement. Boston: Springer, 2013;239-267. DOI 10.1007/978-1-4614-7028-1_7.
- Kim W., Jonson P.S., Baenziger P.S., Lukaszewski A.J., Gaines C.S. Agronomic effect of wheat-rye translocation carrying rye chromatin (1R) from different sources. Crop Sci. 2004;44:1254-1258. DOI 10.2135/cropsci2004.1254.
- Kolmer J.A. Genetics of resistance to wheat leaf rust. Annu. Rev. Phytopathol. 1996;34:435-455. DOI 10.1146/annurev.phyto.34.1.435.
- Kolmer J.A., Anderson J.A. First detection in North America of virulence in wheat leaf rust (*Puccinia triticina*) to seedling plants of wheat with *Lr21*. Plant Dis. 2011;95:1032. DOI 10.1094/PDIS-04-11-0275.
- Kumlay A.M., Baenziger P.S., Gill K.S., Shelton D.R., Graybosch R.A., Lukaszewski A.J., Wenberg D.M. Understanding the effect of rye chromatin in bread wheat. Crop Sci. 2003;43:1643-1651. DOI 10.2135/cropsci2003.1643.
- Lee J.H., Graybosch R.A., Peterson C.J. Quality and biochemical effects of a 1RS.1BL wheat-rye translocation in wheat. Theor. Appl. Genet. 1995;90:105-112. DOI 10.1007/BF00221002.
- Leonova I.N., Röder M.S., Budashkina E.B., Kalinina N.P., Salina E.A. Molecular analysis of leaf rust-resistant introgression lines ob-

- tained by crossing of hexaploid wheat *Triticum aestivum* with tetraploid wheat *Triticum timopheevii*. Rus. J. Genet. 2002;38:1397-1403. DOI 10.1023/A:1021691822962.
- Leonova I.N., Budashkina E.B., Flath K., Weidner A., Börner A., Röder M.S. Microsatellite mapping of a leaf rust resistance gene transferred to common wheat from *Triticum timopheevii*. Cereal Res. Commun. 2010;38:211-219. DOI 10.1556/CRC.38.2010.2.7.
- Leonova I.N., Skolotneva E.S., Salina E.A. Resistance to fungal diseases of spring wheat varieties from different Russian regions. Proc. of the 4th Int. Conf. on Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics and Biotechnology (PlantGen'2017). Almaty, May 29 – June 02. 2017a;170.
- Leonova I.N., Stasyuk A.I., Skolotneva E.S., Salina E.A. Enhancement of leaf rust resistance of Siberian winter wheat varieties by marker-assisted selection. Cereal Res. Commun. 2017b;45:621-632. DOI 10.1556/0806.45.2017.048.
- Li H., Lv M., Song L., Zhang J., Gao A., Li L., Liu W. Production and identification of Wheat-*Agropyron cristatum* 2P translocation lines. PLoS One. 2016a;11(1):e0145928. DOI 10.1371/journal.pone.0145928.
- Li Z., Ren T., Yan B., Tan F., Yang M., Ren Z. A mutant with expression deletion of gene *Sec-1* in a 1RS.1BL line and its effect on production quality of wheat. PLoS One. 2016b;11(1):e0146943. DOI 10.1371/journal.pone.0146943.
- Liu W., Danilova T.V., Rouse M.N., Bowden R.L., Friebe B., Gill B.S., Pumphrey M.O. Development and characterization of a compensating wheat-*Thinopyrum intermedium* Robertsonian translocation with *Sr44* resistance to stem rust (Ug99). Theor. Appl. Genet. 2013;126:1167-1177. DOI 10.1007/s00122-013-2044-6.
- Liu Y., Wang L., Mao S., Liu K., Lu Y., Wang J., Wei Y., Zheng Y. Genome-wide association study of 29 morphological traits in *Aegilops tauschii*. Sci. Rep. 2015;5:15562. DOI 10.1038/srep15562.
- Ma Y.Y., Chen G.Y., Zhang L.Q., Liu Y.X., Liu D.C., Wang J.R., Pu Z.E., Zhang L., Lan X.J., Wei Y.M., Liu C.J., Zheng Y.L. QTL mapping for important agronomic traits in synthetic hexaploid wheat derived from *Aegilops tauschii* ssp. *tauschii*. J. Integr. Agric. 2014; 13(9):1835-1844. DOI 10.1016/S2095-3119(13)60655-3.
- Marais G.F. The modification of a common wheat-*Thinopyrum distichum* translocated chromosome with a locus homeoallelic to *Lr19*. Theor. Appl. Genet. 1992;85:73-78.
- McIntosh R.A., Wellings C.R., Park R.F. Wheat Rust: An Atlas of Resistance Genes. Australia: CSIRO Publ., 1995.
- McIntosh R.A., Zhang P., Cowger C., Park R., Lagudah E.S., Hoxha S. Rye-derived powdery mildew resistance gene *Pm8* in wheat is suppressed by the *Pm3* locus. Theor. Appl. Genet. 2011;123:359-367. DOI 10.1007/s00122-011-1589-5.
- McIntosh R.A., Yamazaki Y., Dubcovsky J., Rogers J., Morris C., Appels R., Xia X.C. Catalogue of Gene Symbols for Wheat 2013. Available at: <https://shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/>
- Merkel A., Forsstrom P.O. Isolation of mildew resistant wheat-rye translocations from a double substitution line. Euphytica. 2000;115:167-172. DOI 10.1023/A:1004018500970.
- Muleta K.T., Bulli P., Rynearson S., Chen X., Pumphrey M. Loci associated with resistance to stripe rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) in a core collection of spring wheat (*Triticum aestivum*). PLoS One. 2017;12(6):e0179087. DOI 10.1371/journal.pone.0179087.
- Ogbonnaya F.C., Abdalla O., Mujeeb-Kazi A., Kazi A.G., Xu S.S., Gosman N., Lagudah E.S., Bonnett D., Sorrells M.E., Tsujimoto H. Synthetic hexaploids: harnessing species of the primary gene pool for wheat improvement. Plant Breed. Rev. 2013;37:35-122. DOI 10.1002/9781118497869.ch2.
- Ortelli S., Winzeler H., Fried P.M., Nösberger J., Winzeler M. Leaf rust resistance gene *Lr9* and winter wheat yield reduction. I. Yield and yield components. Crop Sci. 1996;36:1590-1595. DOI 10.2135/cropsci1996.0011183X003600060030x.
- Pretorius Z.A., Rijkenberg F.H.J., Wilcoxson R.D. Influence of genetic background on the expression of wheat leaf rust resistance gene *Lr22a*. Phytopathology. 1990;80:579-584.
- Pretorius Z.A. Detection of virulence to *Lr41* in a South African pathotype of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. Plant Dis. 1997;81(4):423. DOI 10.1094/PDIS.1997.81.4.423A.
- Rabinovich S.V. Importance of wheat-rye translocations for breeding modern cultivar of *Triticum aestivum* L. Euphytica. 1998;100:323-340. DOI 10.1023/A:1018361819215.
- Ren T.H., Chen F., Yan B.J., Zhang H.Q., Ren Z.L. Genetic diversity of wheat-rye 1BL.1RS translocation lines derived from different wheat and rye sources. Euphytica. 2012;183:133-146. DOI 10.1007/s10681-011-0412-3.
- Salina E.A., Adonina I.G., Badaeva E.D., Kroupin P.Yu., Stasyuk A.I., Leonova I.N., Shishkina A.A., Divashuk M.G., Starikova E.V., Khuat Thi Mai L., Syukov V.V., Karlov G.I. A *Thinopyrum intermedium* chromosome in bread wheat cultivars as a source of genes conferring resistance to fungal diseases. Euphytica. 2015;204:91-101. DOI 10.1007/s10681-014-1344-5.
- Santra M., Wang H., Seifert S., Haley S. Double haploid laboratory protocol for wheat using wheat-maize wide hybridization. Methods Mol. Biol. 2017;1679:235-249. DOI 10.1007/978-1-4939-7337-8_14.
- Schlegel R., Korzun V. About the origin of 1RS.1BL wheat-rye chromosome translocations from Germany. Plant Breed. 1997;116:537-540. DOI 10.1111/j.1439-0523.1997.tb02186.x.
- Silkova O.G., Ivanova Y.N., Krivosheina E.A., Bondarevich E.B., Solovoi L.A., Sycheva E.A., Dubovets N.I. Wheat chromosome instability in the selfed progeny of the double monosomics 1Rv-1A. Biologia Plantarum. 2017. DOI 10.1007/s10536-017-0757-0.
- Singh H., Johnson R., Seth D. Genes for race-specific resistance to yellow rust (*Puccinia striiformis*) in Indian wheat cultivars. Plant Pathol. 1990;39:424-433. DOI 10.1111/j.1365-3059.1990.tb02518.x.
- Šliková S., Gregová E., Bartoš P., Kraic J. Marker-assisted selection for leaf rust resistance in wheat by transfer of gene *Lr19*. Plant Protect. Sci. 2003;39:13-17.
- The T.T., Baker E.P. Basic studies relating to the transference of genetic characters from *Triticum monococcum* L. to hexaploid wheat. Aust. J. Biol. Sci. 1975;28:189-199.
- Timonova E.M., Leonova I.N., Röder M.S., Salina E.A. Marker-assisted development and characterization of a set of *Triticum aestivum* lines carrying different introgressions from the *T. timopheevii* genome. Mol. Breed. 2013;31:123-136. DOI 10.1007/s11032-012-9776-x.
- Tomar S.M.S., Singh S.K., Sivasamy M., Vinod. Wheat rust in India: Resistance breeding and gene deployment. Indian J. Genet. 2014; 74:129-156. DOI 10.5958/0975-6906.2014.00150.3.
- Tyagi S., Mir R.R., Kaur H., Chhuneja P., Ramesh B., Balyan H.S., Gupta P.K. Marker-assisted pyramiding of eight QTLs/genotypes for seven different traits in common wheat (*Triticum aestivum* L.). Mol. Breed. 2014;34:167-175. DOI 10.1007/s11032-014-0027-1.
- Vida G., Gal M., Uhrin A., Veisz O., Syed N.H., Flavell A.J., Wang Z., Bedó Z. Molecular markers for the identification of resistance genes and marker-assisted selection in breeding wheat for leaf rust resistance. Euphytica. 2009;170:67-76. DOI 10.1007/s10681-009-9945-0.
- Volkova L.V., Bebyakin V.M., Lyskova I.V. Plasticity and stability of spring wheat varieties and breeding forms according to grain productivity and quality. Rus. Agricult. Sci. 2010;36:1-4. DOI 10.3103/S10687410010015.
- Wellings C.R., Singh R.P., Yahyaoui A., Nazari K., McIntosh R.A. The development and application of near-isogenic lines for monitoring cereal rust pathogens. Proc. of the Borlaug Global Rust Initiative Technical Workshop (BGRI). Mexico, 2009;77-87.
- Zhang J., Zhang J., Liu W., Han H., Lu Y., Yang X., Li X., Li L. Introgression of *Agropyron cristatum* 6P chromosome segment into common wheat for enhanced thousand-grain weight and spike length. Theor. Appl. Genet. 2015;128:1827-1837. DOI 10.1007/s 00122-015-2550-9.
- Zhang W., Lukaszewski A.J., Kolmer J., Soria M.A., Goyal S., Dubcovsky J. Molecular characterization of durum and common wheat recombinant lines carrying leaf rust resistance (*Lr19*) and yellow pigment (*Y*) genes from *Lophopyrum ponticum*. Theor. Appl. Genet. 2005;111:573-582. DOI 10.1007/s00122-005-2048-y.



Идентификация гена устойчивости к бурой ржавчине *Lr34* в сортах и коллекционных образцах озимой мягкой пшеницы Аграрного научного центра «Донской»

Н.Н. Вожжова

Аграрный научный центр «Донской», Ростовская область, Зерноград, Россия

Одно из приоритетных направлений селекции озимой мягкой пшеницы в настоящее время – обеспечение сопротивляемости листовым заболеваниям и, в частности, бурой ржавчине как самой вредоносной из них. Ген устойчивости к бурой ржавчине, *Lr34*, обеспечивает резистентность растений пшеницы по типу медленного развития. Использование *Lr34* в сочетании с другими генами устойчивости к бурой ржавчине (*Lr2c*, *Lr10*, *Lr12*, *Lr13*, *Lr16* и др.) позволит получить образцы и сорта, менее подверженные болезням в полевых условиях. Целью работы была идентификация гена *Lr34* в сортах и коллекционных образцах озимой мягкой пшеницы ФГБНУ «Аграрный научный центр «Донской» (АНЦ «Донской»), поскольку предполагалось его присутствие благодаря вовлечению в гибридизацию в 1960-е гг. сорта Безостая 1, а изучение этого гена в нашем коллекционном материале ранее не проводилось. В статье представлены результаты работы по идентификации у 646 образцов озимой мягкой пшеницы (в том числе 36 сортов АНЦ «Донской», внесенных в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию, и 8 сортов, проходящих государственное сортоиспытание) гена устойчивости к бурой ржавчине *Lr34* и его аллельного состояния. Оценка аллеля гена *Lr34* проводилась при помощи кодоминантного молекулярного STS-маркера *csLV34* методом полимеразной цепной реакции. Всего было идентифицировано 238 образцов, несущих ген устойчивости к бурой ржавчине *Lr34* в доминантном аллельном состоянии. Сорта селекции АНЦ «Донской» Находка, Бонус, Конкурент, Аксинья, Казачка, Донская полукарликовая, Донская безостая, Изюминка, Зерноградка 9, Зерноградка 10 и Зерноградка 11 рекомендуются в качестве источников гена *Lr34* для селекции на устойчивость озимой мягкой пшеницы к болезням сельскохозяйственных культур, поскольку несут его доминантный аллель.

Ключевые слова: сорта; образцы; озимая мягкая пшеница; бурая ржавчина; ген; устойчивость; *Lr34*; полимеразная цепная реакция; идентификация.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Вожжова Н.Н. Идентификация гена устойчивости к бурой ржавчине *Lr34* в сортах и коллекционных образцах озимой мягкой пшеницы Аграрного научного центра «Донской». Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(3):329-332. DOI 10.18699/VJ18.368

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Vozhzhova N.N. Identification of the *Lr34* gene for resistance to leaf rust in varieties and collection samples of winter soft wheat from the Agricultural Research Center "Donskoy". Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(3):329-332. DOI 10.18699/VJ18.368 (in Russian)

Identification of the *Lr34* gene for resistance to leaf rust in varieties and collection samples of winter soft wheat from the Agricultural Research Center "Donskoy"

N.N. Vozhzhova

Agricultural Research Center "Donskoy", Rostov region, Zernograd, Russia

Nowadays one of the priorities in winter soft wheat breeding is to provide resistance to leaf diseases, and, in particular, to leaf rust as the most harmful of them. The gene for resistance to leaf rust, *Lr34*, provides resistance to wheat plants at the slow development. The use of this gene together with other genes for resistance to leaf rust will allow obtaining varieties and samples less susceptible to the disease. The purpose of this work was to identify the *Lr34* gene in the varieties and collection samples of winter soft wheat in the Agricultural Research Center "Donskoy" (ARC "Donskoy"), because its presence was suspected due to the introduction of the variety "Bezostaya 1" in hybridization of the 1960s, but the study of this gene in our collection has not been carried out yet. The article gives the results of the study of 646 samples of winter soft wheat (including 36 varieties of ARC "Donskoy" introduced in the State Register of Breeding Achievements of the Russian Federation and 8 varieties being tested in the State Variety Testing) and identification of the *Lr34* gene and its allelic state. The assessment of the allelic state of the *Lr34* gene has been carried out with the help of the codominant marker *csLV34* using the method of PCR. There have been identified 238 samples with the *Lr34* gene in the dominant allelic state. The varieties Nakhodka, Bonus, Konkurent, Aksiniya, Kazachka, Donskaya polukarlikovaya, Donskaya bezostaya, Izyuminka, Zernogradka 9, Zernogradka 10 and Zernogradka 11 developed in SSE "ARC "Donskoy" are recommended as a source of the *Lr34* gene to breed winter soft wheat resistant to the diseases.

Key words: varieties; samples; winter soft wheat; leaf rust; gene; resistance; *Lr34*; polymerase chain reaction; identification.



В настоящее время одним из приоритетных направлений селекции озимой мягкой пшеницы является обеспечение устойчивости к листовым болезням и, в частности, к бурой ржавчине как самой вредоносной из них. В мире известно уже более 80 генов устойчивости к этому заболеванию, для идентификации которых используются сцепленные с ними молекулярные маркеры. Гены устойчивости к бурой ржавчине в опубликованном каталоге генных символов получили обозначение *Lr* (McIntosh et al., 2013).

Ген *Lr34* обеспечивает устойчивость растений пшеницы по типу медленного развития, который характеризуется удлинением периода развития болезни после поражения, а также уменьшением количества пустул возбудителя на поверхности листа и их размеров. Использование этого гена в сочетании с другими генами устойчивости к бурой ржавчине (*Lr2c*, *Lr10*, *Lr12*, *Lr13*, *Lr16* и др.) позволяет получить менее подверженные болезни образцы и сорта пшеницы (Schnurbusch et al., 2004). Предполагалось, что ген устойчивости к бурой ржавчине, *Lr34*, может присутствовать в сортах и коллекционных образцах озимой мягкой пшеницы ФГБНУ «Аграрный научный центр «Донской» (АНЦ «Донской») благодаря вовлечению в гибридизацию с 1959 г. сорта Безостая 1 (Калиненко, 1995).

В связи с этим цель нашей работы – идентификация гена *Lr34* и определение его аллельного состояния в образцах озимой мягкой пшеницы АНЦ «Донской».

Материал и методы

Объектом исследования были 646 образцов озимой мягкой пшеницы из коллекции отдела селекции и семеноводства пшеницы АНЦ «Донской», в том числе 36 сортов, внесенных в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию, и 8 сортов, проходящих государственное сортоиспытание (Самофалова и др., 2016). В качестве контроля использовали почти изогенную линию сорта Thatcher, несущую ген устойчивости к бурой ржавчине *Lr34*. ДНК пшеницы выделяли из смеси 5–7-дневных проростков каждого исследуемого образца (Plaschke et al., 1995).

Идентификацию гена *Lr34* осуществляли при помощи метода полимеразной цепной реакции с кодоминантным STS-маркером *csLV34*, маркирующим ген *Lr34* в различных аллельных состояниях (Lagudah et al., 2009).

Состав реакционной смеси в объеме 25 мкл: геномная ДНК (25 нг/мкл) – 2 мкл; 10 × PCR буфер – 2.5 мкл; $MgCl_2$ (25 ммоль) – 2 мкл; смесь dNTPs (25 ммоль) – 0.2 мкл; по 1 мкл каждого праймера (10 пмоль); Tag-полимераза (5 ед./мкл) – 0.25 мкл; деионизированная вода – 16.05 мкл.

Условия амплификации: 94 °C – 5 мин; 40 циклов (94 °C – 40 с, 55 °C – 30 с, 72 °C – 1 мин); 72 °C – 7 мин (Lagudah, 2006). Продукты амплификации визуализировали в 2 % агарозном геле методом горизонтального электрофореза в ТВЕ-буфере (Brody et al., 2004). Визуализацию ДНК в окрашенном бромистым этидием агарозном геле осуществляли с помощью прибора Bio-Rad GelDoc XR+ с программным обеспечением BioRad ImageLab 5.1. Размер ампликонов определяли с помощью маркера молеку-

лярной массы ДНК 100–1000 п. н. («Синтол», г. Москва, Россия).

Результаты и обсуждение

Ген устойчивости к бурой ржавчине *Lr34* считается слабо эффективным в России (Гулятьева, Садовая, 2014), но представляет ценность в качестве источника сцепленных с ним в одном сегменте хромосомы других генов устойчивости к болезням, таких как желтая ржавчина (*Yr18*), мучнистая роса (*Pm46*) и стеблевая ржавчина (*Sr57*) (McIntosh et al., 2013).

Всего исследовано 646 образцов озимой мягкой пшеницы АНЦ «Донской» (в том числе 44 сорта), из которых идентифицировано 238 образцов, несущих ген устойчивости к бурой ржавчине *Lr34* в доминантном аллельном состоянии.

Гетерозиготное аллельное состояние гена *Lr34* было идентифицировано в 68 образцах, рецессивное – в 240. В 99 пробах ген *Lr34* отсутствовал (например, в сортах иностранной селекции из коллекции ВИР с каталожными номерами 63938, 63542, 63543, 63547, 63283, 63548, 63549, 63550, 63551, 63555 и др.).

Маркер *csLV34*, применяемый для идентификации гена устойчивости к бурой ржавчине *Lr34*, позволяет оценить аллельное состояние этого гена в образцах озимой мягкой пшеницы. На доминантный (функциональный) аллель указывает наличие в образцах фрагмента амплификации с молекулярным весом 150 п. н., на рецессивный (не функциональный) аллель – 229 п. н. В случае наблюдения обоих фрагментов в образце ген *Lr34* находится в гетерозиготном состоянии (рисунок) либо это свидетельствует о гетерогенности исходного материала, поскольку экстракция ДНК проводилась из смеси проростков.

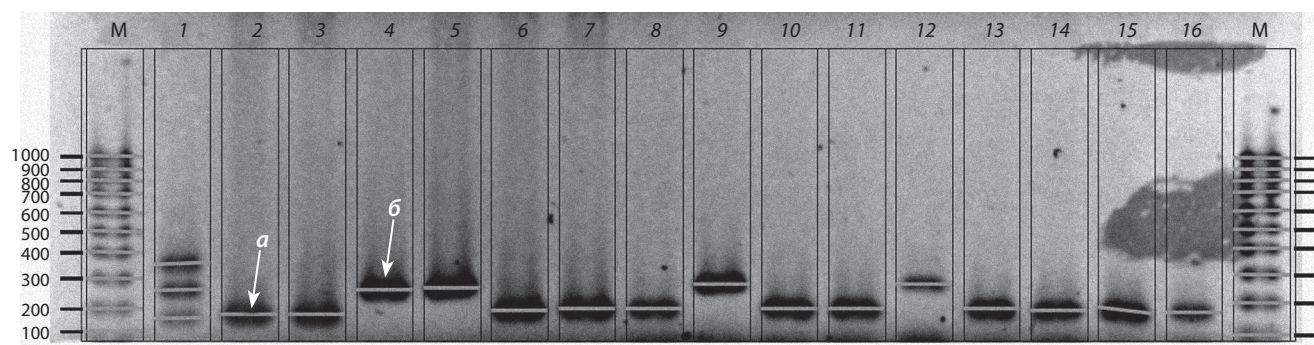
На рисунке представлен фрагмент одного из рабочих гелей, идентифицирующих наличие в исследуемых образцах гена устойчивости к бурой ржавчине *Lr34* в различных аллельных состояниях.

Сорта Дон 95, Ростовчанка 5, Лучезар и Подарок Дону имеют рецессивный аллель гена *Lr34*.

Сорта Находка, Бонус, Конкурент, Аксиныя, Казачка, Донская полукарликовая, Донская безостая, Изюминка, Зерноградка 9, Зерноградка 10 и Зерноградка 11 несут доминантный аллель гена *Lr34* и могут быть использованы в качестве его источников в селекционном процессе.

У сорта Ермак помимо гетерозиготного состояния аллелей гена *Lr34* наблюдается дополнительный ампликон размером 343 п. н. Аналогичная картина отмечается и в ряде других проанализированных образцов. Возникновение ампликона такого размера, отличного от обоих известных аллелей гена *Lr34*, может быть связано с различными причинами: появлением неспецифического продукта амплификации, гетерогенностью или загрязнением исходного материала, а также с рекомбинацией маркера *csLV34* с локусом *Lr34*.

У сортов селекции АНЦ «Донской», внесенных в Государственный реестр селекционных достижений, а также проходящих государственное сортоиспытание, определены аллели гена устойчивости к бурой ржавчине *Lr34* (таблица).



Пример электрофореграммы по идентификации аллельного состояния гена *Lr34* в сортах озимой мягкой пшеницы АНЦ «Донской».

a – ампликон доминантного аллеля гена – 150 п.н.; *б* – ампликон рецессивного аллеля гена – 229 п.н.

М – маркер молекулярного веса 100–1000 п.н.; 1 – Ермак; 2 – Находка; 3 – Бонус; 4 – Дон 95; 5 – Ростовчанка 5; 6 – Конкурент; 7 – Аксинья; 8 – Казачка; 9 – Лучезар; 10 – Донская полукарликовая; 11 – Донская безостая; 12 – Подарок Дону; 13 – Изюминка; 14 – Зерноградка 9; 15 – Зерноградка 10; 16 – Зерноградка 11.

Внесенные в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию, и проходящие государственное сортоиспытание сорта озимой мягкой пшеницы АНЦ «Донской» с идентифицированными аллелями гена *Lr34*

Сорт	Генотип по аллелям гена <i>Lr34</i>	Сорт	Генотип по аллелям гена <i>Lr34</i>	Сорт	Генотип по аллелям гена <i>Lr34</i>	Сорт	Генотип по аллелям гена <i>Lr34</i>
Аксинья	3	Донской маяк	3	Капризуля	3	Спартак	1
Аскет	3	Донской простор	3	Конкурент	3	Станичная	3
Гарант	3	Донской сюрприз	3	Лидия	3	Танаис	3
Дар Зернограда	1	Донщина	2	Лилит	3	Бонус	3
Девиз	3	Ермак	2	Марафон	3	Кипчак	1
Дон 93	3	Зарница	1	Находка	3	Адмирал	3
Дон 95	1	Зерноградка 9	3	Памяти Калиненко	3	Казачка	3
Дон 105	3	Зерноградка 10	3	Подарок Дону	1	Лучезар	1
Дон 107	3	Зерноградка 11	3	Ростовчанка 3	3	Краса Дона	3
Донская безостая	3	Изюминка	3	Ростовчанка 5	1	Шеф	3
Донская юбилейная	3	Капитан	3	Ростовчанка 7	1	Этюд	1

Примечание. 1 – рецессивный аллель; 2 – гетерозиготное аллельное состояние гена; 3 – доминантный аллель.

Из 44 представленных сортов доминантным аллелем гена обладали 32, а гетерозиготное аллельное состояние было выявлено у сортов Донщина и Ермак.

Рецессивный аллель гена устойчивости к бурой ржавчине *Lr34* наблюдался у сортов Дар Зернограда, Дон 95, Зарница, Подарок Дону, Ростовчанка 5, Ростовчанка 7, Спартак, Кипчак, Лучезар и Этюд.

Сорта озимой мягкой пшеницы с доминантным аллелем гена устойчивости к бурой ржавчине *Lr34* имели невысокое поражение патогеном в полевых условиях. Так, у сортов Зерноградка 9, Зерноградка 11, Конкурент, Капитан, Марафон, Лидия, Донской сюрприз, Аскет и других поражение составляло 0–5 %, в то время как сорта с рецессивным аллелем *Lr34*, Дар Зернограда, Дон 95, Зарница, Подарок Дону и другие поражались до 50–60 %.

В селекции на устойчивость озимой мягкой пшеницы к болезням сельскохозяйственных культур рекомендуется использовать в качестве источников сорта селекции АНЦ «Донской», обладающие доминантным аллелем гена устойчивости к бурой ржавчине *Lr34*.

Благодарности

Идентификация гена устойчивости к бурой ржавчине *Lr34* у сортов и коллекционных образцов озимой мягкой пшеницы АНЦ «Донской» проводилась по госзаданию № 0706-2015-0001.

Автор благодарит зав. отделом селекции и семеноводства озимой пшеницы ФГБНУ «АНЦ «Донской» Д.М. Марченко за предоставление материала для исследований.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Гуляева Е.И., Садовая А.С. Селекция мягкой пшеницы на устойчивость к бурой ржавчине в России. Защита и карантин растений. 2014;10:24-26.
- Калиненко И.Г. Селекция озимой пшеницы. М.: Родник, 1995.
- Самофалова Н.Е., Скрипка О.В., Марченко Д.М., Филиппов Е.Г., Донцова А.А., Костылев П.И., Кривошеев Г.Я., Ковтунова Н.А., Ковтунов В.В., Игнатьев С.А. Сорты и гибриды. Ростов-н/Д.: ЗАО «Книга», 2016.
- Brody J.R., Calhoun E.S., Gallmeier E., Creavalle T.D., Kern S.E. Ultra-fast high-resolution agarose electrophoresis of DNA and RNA using low-molarity conductive media. Biotechniques. 2004;37(4): 598-602.
- Lagudah E.S., Krattinger S.G., Herrera-Foessel S. Gene-specific markers for the wheat gene *Lr34/Yr18/Pm38* which confers resistance to multiple fungal pathogens. Theor. Appl. Genet. 2009;119: 889-898.
- Lagudah E.S., McFadden H., Singh R.P., Huerta-Espino J., Bariana H.S., Spielmeier W. Molecular-genetic characterization of the *Lr34/Yr18* slow rusting resistance gene region in wheat. Theor. Appl. Genet. 2006;114:21-30.
- McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers W.J., Morris C., Appels R., Xia X.C. Catalogue of gene symbols for wheat. The 12th Int. Wheat Genetics Symp. Japan, Yokohama, 2013;197. Available at <http://maswheat.ucdavis.edu/CGSW/GeneSymbol.pdf>.
- Plaschke J., Ganal M.W., Roder M.S. Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. Theor. Appl. Genet. 1995;91:1001-1007.
- Schnurbusch T., Paillard S., Schori A., Messmer M., Schachermayr G., Winzeler M., Keller B. Dissection of quantitative and durable leaf rust resistance in Swiss winter wheat reveals a major resistance QTL in the *Lr34* chromosomal region. Theor. Appl. Genet. 2004;108: 477-484.



Гены, контролирующие синтез флавоноидных и меланиновых пигментов ячменя

О.Ю. Шоева¹✉, К.В. Стрыгина¹, Е.К. Хлесткина^{1, 2, 3}

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

Помимо зеленой окраски, обусловленной хлорофиллом, у ячменя зерно и вегетативные органы могут быть окрашены соединениями фенольной природы, такими как меланины и флавоноидные пигменты антоцианы и проантоцианидины. В связи с широкой биологической активностью данных соединений и их неокрашенных предшественников в отношении растений и человека в последнее время наблюдается повышенный интерес к изучению генов, определяющих окраску у растений. Наиболее изученной является система генов, участвующих в синтезе флавоноидных пигментов. С семидесятих годов прошлого века в геноме ячменя идентифицированы и локализованы как структурные гены, кодирующие ферменты метаболизма флавоноидов, так и регуляторные гены, определяющие тканеспецифическое накопление данных пигментов в тканях зерна, а также в вегетативных органах. К настоящему времени выделены нуклеотидные последовательности регуляторных генов *Ant1* и *Ant2*, определяющих накопление антоцианов в перикарпе зерна, гена *Ant28*, контролирующего биосинтез проантоцианидинов (конденсированных танинов) в семенной оболочке, а также генов *HvMpc2*, *HvMyc2*, *HvWD40*, определяющих накопление антоцианов в алейроновом слое зерновки ячменя. Менее изучена меланиновая окраска. Ввиду сложной структуры и устойчивости к различным растворителям химическая природа данных пигментов до сих пор не установлена. Однако благодаря сравнительному анализу транскриптомов в окрашенных и неокрашенных чешуях колоса и зерна почти изогенных линий ячменя удалось идентифицировать метаболические пути, лежащие в основе формирования меланиновой пигментации. В предложенной статье проводится обзор результатов работ, посвященных исследованиям генетического контроля формирования окраски у ячменя.

Ключевые слова: *Hordeum vulgare* L.; антоцианы; проантоцианидины; танины; меланины; флавоноиды.

Genes determining the synthesis of flavonoid and melanin pigments in barley

O.Yu. Shoeva¹✉, K.V. Strygina¹, E.K. Khlestkina^{1, 2, 3}

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³ N.I. Vavilov All-Russian Research Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia

In addition to the green color caused by chlorophyll, grain and vegetative organs of barley can be colored by compounds of phenolic nature, such as melanins and flavonoids, which include anthocyanins, proanthocyanidins. Due to the wide biological activity of these pigmented compounds and their uncolored precursors in respect to plants and humans, there has recently been an increased interest in studying genes that determine pigmentation in plants. The gene network determining the synthesis of flavonoid pigments is the most studied one. Since the 1970s, structural genes that encode the enzymes of flavonoid metabolism, as well as regulatory genes that determine the tissue-specific accumulation of these pigments in grain tissues, as well as in vegetative organs have been identified and localized in the barley genome. The *Ant1* and *Ant2* genes, determining the accumulation of anthocyanins in grain pericarp, the *Ant28* gene controlling the biosynthesis of proanthocyanidins (condensed tannins) in seed coat, as well as the *HvMpc2*, *HvMyc2* and *HvWD40* genes responsible for the accumulation of anthocyanins in the aleurone layer of barley grain have been determined. Melanins are less studied pigments of plants. Due to the complex structure and resistance to various solvents, the chemical nature of these pigments has not been established. However, due to the comparative analysis of transcriptomes in the colored and uncolored lemma and grain pericarp of barley near-isogenic lines, it was possible to identify the metabolic pathways underlying the formation of the melanin pigmentation. The proposed article reviews the results of the studies on the genetic control of barley coloration.

Key words: *Hordeum vulgare* L.; anthocyanins; proanthocyanidins; tannins; melanins; flavonoids.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Шоева О.Ю., Стрыгина К.В., Хлесткина Е.К. Гены, контролирующие синтез флавоноидных и меланиновых пигментов ячменя. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(3):333-342. DOI 10.18699/VJ18.369

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Shoeva O.Yu., Strygina K.V., Khlestkina E.K. Genes determining the synthesis of flavonoid and melanin pigments in barley. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(3):333-342. DOI 10.18699/VJ18.369 (in Russian)



В определении окраски различных органов у ячменя (*Hordeum vulgare* L., $2n = 2x = 14$, HH) кроме основного пигмента растений, хлорофилла, участвуют две группы соединений фенольной природы: 1) флавоноиды, к которым относятся антоцианы и проантоцианидины, обуславливают красно-фиолетовую окраску вегетативных органов, а также голубую, фиолетовую и красно-коричневую пигментацию зерна ячменя (последнюю придают проантоцианидины) и 2) меланиновые пигменты, образуемые в результате окисления и полимеризации фенольных соединений, определяют черную окраску чешуй колоса и зерна (Harlan, 1914).

Перечисленные пигментированные соединения и их неокрашенные предшественники выполняют важные физиологические функции в жизни растений. Так, флавоноидные соединения влияют на рост и развитие растений, играют защитную роль при различных типах биотического и абиотического стресса, участвуют в поддержании состояния покоя семян (Debeaujon et al., 2000; Grotewold, 2006; Gould et al., 2009; Di Ferdinando et al., 2012; Khlestkina, 2013a), а меланиновая окраска вносит вклад в устойчивость злаковых растений к фузариозу колоса (Zhou et al., 1991; Choo et al., 2005; Loskutov et al., 2016).

К настоящему времени помимо важных функций, выполняемых фенольными соединениями в жизни растений, показана функциональная активность группы флавоноидных соединений для здоровья человека (Rice-Evans et al., 1996; Szajdek, Borowska, 2008; Тараховский и др., 2013). В частности, с потреблением антоцианов связывают уменьшение риска возникновения сердечно-сосудистых заболеваний, рака, а также возрастных нейродегенеративных заболеваний (Youdim et al., 2004; Reddivari et al., 2007; Hui et al., 2010; Mauray et al., 2012; Bunea et al., 2013; Strathearn et al., 2014). Насыщение съедобных частей растений, в том числе зерновок ячменя, антиоксидантными соединениями антоцианами является актуальной задачей.

Таким образом, в связи с широкой биологической активностью пигментированных фенольных соединений и их неокрашенных предшественников в последнее время наблюдается повышенный интерес к изучению генов, контролирующих синтез пигментов у растений.

В настоящем обзоре суммируются результаты классических и современных молекулярно-генетических исследований механизмов формирования признаков окраски ячменя, обусловленных флавоноидными и меланиновыми пигментами.

Флавоноидная пигментация у ячменя

У ячменя листовые пластинки, листовое влагалище, ушки листового влагалища, стебель, ости, жилки колосковой чешуи и основание растения могут иметь красно-фиолетовую антоциановую окраску (рис. 1, а) (Lundqvist, Franckowiak, 2003). Антоцианы могут синтезироваться в перикарпе и алейроновом слое зерна, придавая зерну фиолетовую и голубую окраски соответственно (Harlan, 1914; Adzhieva et al., 2016) (рис. 1, б). Химический состав антоцианов, синтезируемых в перикарпе и алейроновом слое, разный. В перикарпе преобладает цианидин-3-глюкозид, тогда как в алейроновом слое – дельфинидин-3-глюкозид

(Kim et al., 2007). Полимерные флавоноидные соединения проантоцианидины (конденсированные танины) могут синтезироваться в оболочке зерна ячменя, придавая зерну красно-коричневую окраску (Aastrup et al., 1984).

Исследование молекулярно-генетических основ биосинтеза флавоноидных соединений у ячменя было обусловлено потребностями пивоваренной промышленности. Известно, что проантоцианидины зерна ячменя вызывают нежелательное коллоидное помутнение пива, снижая, таким образом, его качество (von Wettstein, 2007). В связи с этим стояла задача изучить генетический контроль биосинтеза проантоцианидинов и получить пивоваренные сорта ячменя, не способные к их синтезу. Для этой цели в 70-х годах прошлого века с помощью химического мутагенеза было получено более 700 линий ячменя, несущих мутации в 30 *Ant* (*anthocyanin-less*) локусах, контролирующих биосинтез антоцианов и/или проантоцианидинов (Jende-Strid, 1993). Для некоторых из этих локусов была установлена функциональная роль, заключающаяся либо в контроле ферментативной активности, либо в регуляции транскрипционной активности генов, задействованных в биосинтезе (Jende-Strid, 1993).

Благодаря секвенированию генома ячменя (The International Barley Genome Sequencing Consortium, 2012), а также развитию методов сравнительной геномики, относительно недавно стало возможным идентифицировать многие недостающие компоненты системы генов, контролирующей окраску флавоноидной природы у ячменя, в том числе идентифицировать регуляторные гены, определяющие тканеспецифическое накопление пигментов.

Структурные гены биосинтеза флавоноидных соединений у ячменя

Биосинтез флавоноидов – один из самых полно охарактеризованных метаболических путей у растений (рис. 2) (Winkel-Shirley, 2001; Khlestkina, 2013b).

Предшественником всех флавоноидных соединений, включая антоцианы и проантоцианидины, является фенилаланин, который в результате активности ферментов фенилпропановидного пути биосинтеза – фенилаланинаммияклизы (PAL), циннамат-4-гидроксилазы (C4H) и 4-кумарат:КоА лигазы (4CL) – преобразуется в КоА-эфир коричной кислоты. Это соединение далее подвергается последовательному преобразованию ферментами флавоноидного пути биосинтеза – халконсинтазой (CHS), халконфлаванонизомеразой (CHI), флаванон-3-гидроксилазой (F3H), цитохром P450-зависимыми монооксигеназами флавоноид-3'-гидроксилазой (F3'H) и/или флавоноид-3', 5'-гидроксилазой (F3'5'H) и дигидрофлавонол 4-редуктазой (DFR) – до лейкоантоцианидинов, которые с помощью лейкоантоцианидиндиоксигеназы/антоцианидинсинтазы (LDOX/ANS) преобразуются в антоцианидины. Далее ферменты, относящиеся к классам метилтрансфераз (MT), гликозилтрансфераз (GT) и ацилтрансфераз (AT), преобразуют антоцианидины в окрашенные антоцианы. Лейкоантоцианидины и антоцианидины являются также субстратами для лейкоантоцианидинредуктазы (LAR) и антоцианидинредуктазы (ANR), которые окисляют данные соединения до соответствующих флаван-3-олов (катехинов), которые в свою очередь с помощью неизвестных до

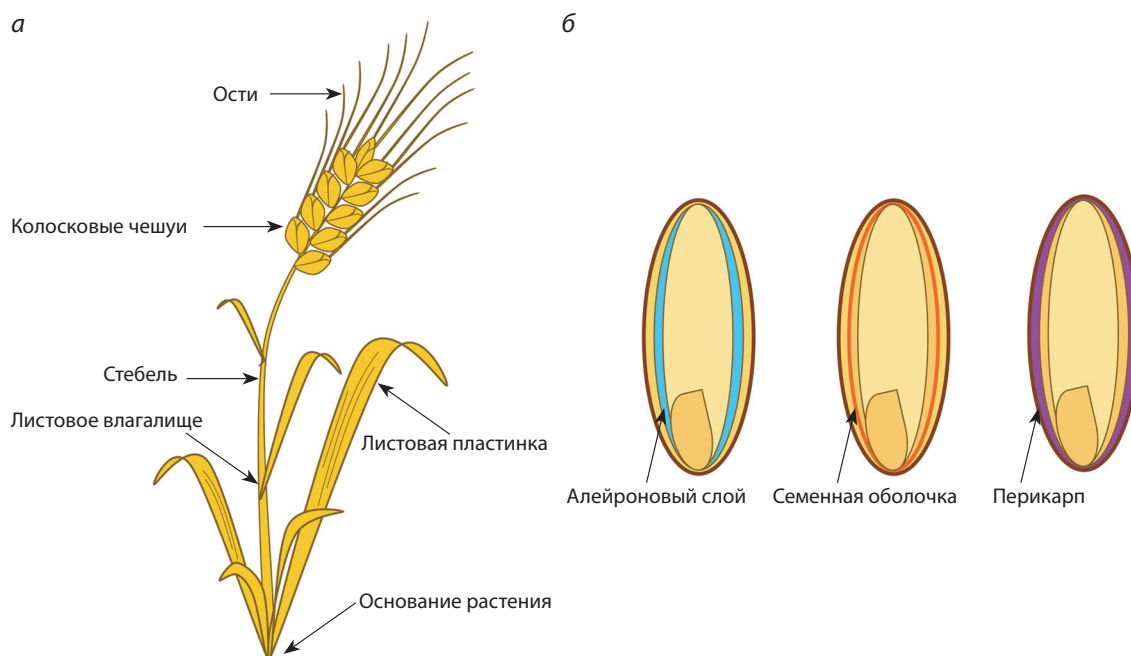


Рис. 1. Схематическое изображение органов растения (а) и тканей зерна (б) ячменя, в которых могут накапливаться флавоноидные пигменты.

Антоциановые соединения, синтезируемые в перикарпе и алейроновом слое, придают зерну фиолетовую и голубую окраску соответственно. Проантоцианидины семенной оболочки окрашивают зерно в красно-коричневый цвет.

сих пор ферментов полимеризуются в проантоцианидины (конденсированные танины).

У ячменя основные структурные гены, кодирующие ферменты фенилпропаноидного и флавоноидного путей биосинтеза, были идентифицированы и локализованы в геноме (табл. 1).

Методом Саузерн-блот гибридизации в геноме ячменя идентифицировано пять копий гена *Pal*, а с помощью Нозерн-блот гибридизации показано, что все они экспрессируются в корнях проростков ячменя (Kervinen et al., 1997). Две тесно сцепленные копии гена *Pal* были картированы на хромосоме 2HL. BLAST-поиском в геноме ячменя идентифицированы дополнительные копии генов-кандидатов *Pal* на хромосомах 2HS, 6HL, 3HS (Peukert et al., 2013).

Четыре копии генов-кандидатов для *C4h* были найдены в геноме ячменя с помощью BLAST-поиска с известными нуклеотидными последовательностями *C4h* риса (Peukert et al., 2013). Одна копия была картирована на хромосоме 3HL, три другие локализованы в собранных контигах хромосом 7HL, 3HL, 1H (Peukert et al., 2013).

Гены *Chs* представлены в геноме ячменя в виде мультигенного семейства, содержащего семь копий (Christensen et al., 1998). Одна полноразмерная копия гена *Chs* была выделена с помощью Саузерн-блот гибридизации с использованием в качестве меченого зонда последовательности кДНК гена *Chs Antirrhinum majus* (Rohde et al., 1987, 1991). Другая копия *Chs* выделена из кДНК библиотеки, полученной из листьев ячменя после инокуляции патогенным грибом *Blumeria graminis* (Christensen et al., 1998). Копии гена *Chs* были картированы на хромосомах 1HS, 1HL и 6HS (Pecchioni et al., 1999; Peukert et al., 2013); нук-

леотидные последовательности, сходные с *Chs*, также были идентифицированы в собранных контигах хромосом 2HS, 2HL, 4HS и 6HL (Peukert et al., 2013). В геноме ячменя присутствует одна копия гена *Chi*, локализованная на хромосоме 5HL (Druka et al., 2003).

Ген *F3h* ячменя был выделен из кДНК библиотеки, полученной из перикарпа и оболочек зерна, с помощью Нозерн-блот гибридизации с использованием кДНК-пробы *F3h A. majus* (Meldgaard, 1992). Ген был картирован на хромосоме 2HL (Khlestkina et al., 2011; Peukert et al., 2013).

Одна копия гена *F3'h* была найдена в геноме ячменя по гомологии с нуклеотидной последовательностью гена *F3'h* кукурузы. Данная последовательность локализуется в контигах хромосомы 1H (Shoeva et al., 2016). Вторая копия *F3'h* обнаружена в коротком плече хромосомы 6H (Вихорев и др., 2018).

Четыре копии гена *F3'5'h* были выявлены в геноме ячменя на основе известных последовательностей *F3'5'h* двудольных видов растений (Strygina et al., 2017; Вихорев и др., 2018). Одна копия была картирована в хромосоме 4HL (*F3'5'h-1*), две — в хромосоме 6H (*F3'5'h-2* и *F3'5'h-3*) и одна в хромосоме 7H (*F3'5'h-4*). Для копии *F3'5'h-1* показана тканеспецифическая экспрессия в алейроновом слое зерновки окрашенных и неокрашенных линий ячменя (Strygina et al., 2017). Для *F3'5'h-4* была продемонстрирована активность во всех проанализированных слоях зерновки ячменя, а также в стеблях, контрастных по содержанию антоциановых пигментов (Вихорев и др., 2018).

Полноразмерная кодирующая нуклеотидная последовательность гена *Dfr* была выделена из библиотеки экспрессирующихся последовательностей EST зерна ячменя с использованием кДНК *Dfr* кукурузы в качестве зонда

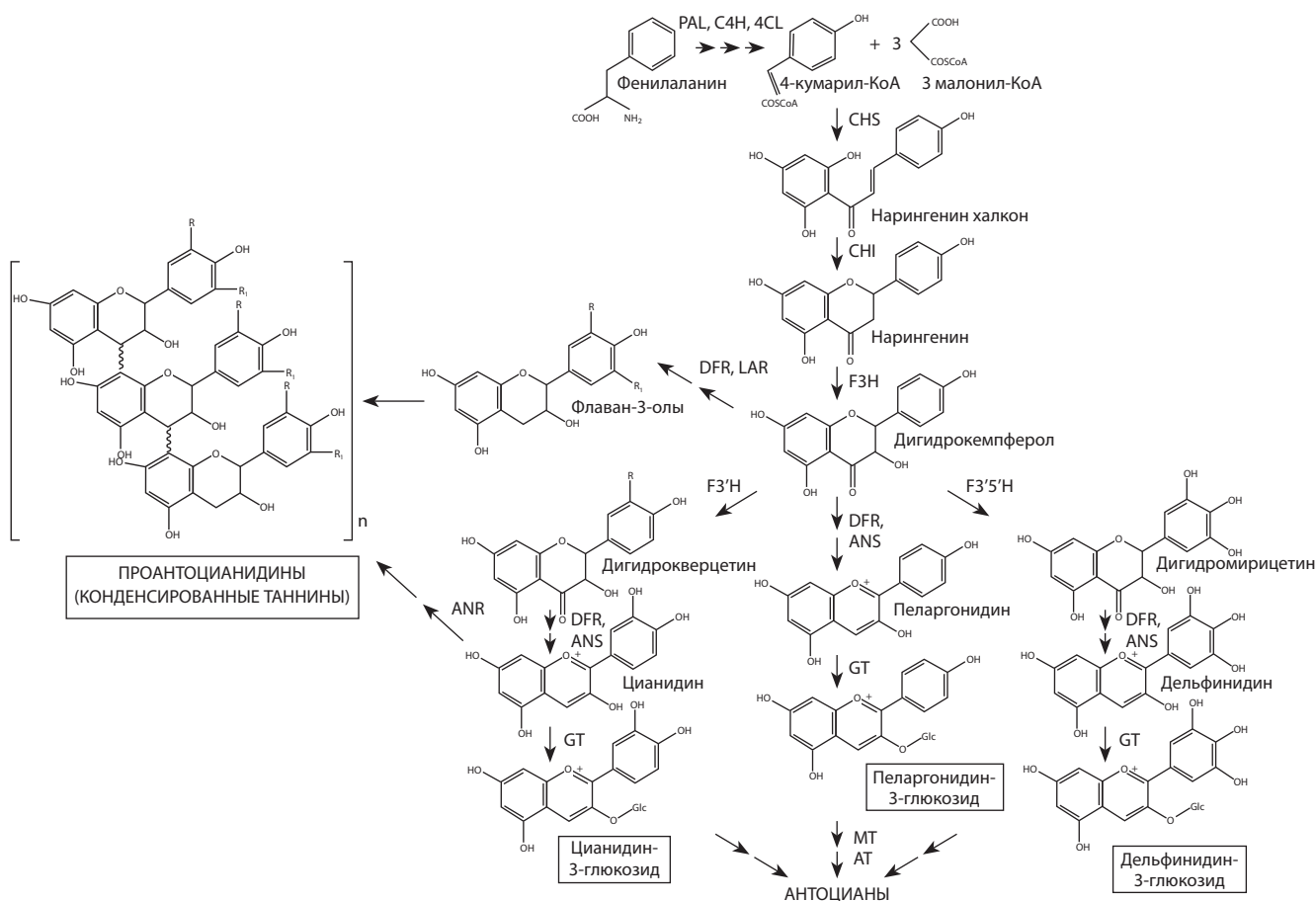


Рис. 2. Схема биосинтеза флавоноидных пигментов, определяющих окраску у ячменя.

4CL – 4-кумарат:КоА лигаза; ANR – антоцианидинредуктаза; ANS (LDOX) – антоцианидинсинтаза (лейкоантоцианидиндиоксигеназа); AS (AUS) – ауреузинсинтаза; AT – ацетилтрансфераза; CHI – халконфлаванонизомераз; C4H – циннамат-4-гидроксилаза; CHS – халконсинтаза; DFR – дигидрофлавонол-4-редуктаза; F3H – флаванон-3-гидроксилаза; F3'H – флавоноид-3'-гидроксилаза; F3'5'H – флавоноид-3',5'-гидроксилаза; GT – гликозилтрансфераза; LAR (LCR) – лейкоантоцианидинредуктаза; MT – метилтрансфераза; PAL – фенилаланинаммиаклиаза. Схема построена на основе данных B. Winkel-Shirley (2001) и E.K. Khlestkina (2013b).

(Kristiansen, Rohde, 1991). Ген был картирован на длинном плече хромосомы 3Н (Peukert et al., 2013).

Одна копия гена *Ans* была обнаружена в контиге хромосомы 5НL ячменя (Shoeva et al., 2016). Вероятная нуклеотидная последовательность гена *Lar* была найдена в библиотеке экспрессирующихся последовательностей EST алгоритмом tBLASTn с использованием в качестве референсной аминокислотной последовательности LAR десмодиума (Bogs et al., 2005). Ген *Lar* до сих пор не локализован в геноме ячменя.

Полноразмерная нуклеотидная последовательность гена *Ufgt* была выделена из генома ячменя с помощью Саузерн-блот гибридизации с использованием нуклеотидной последовательности гена *Ufgt* кукурузы в качестве пробы. Ген был картирован на хромосоме 7HS (Wise et al., 1990). Нуклеотидные последовательности генов *4Cl* и *Anr* до сих пор не идентифицированы.

Регуляция биосинтеза флавоноидных пигментов

Регуляция экспрессии структурных генов биосинтеза флавоноидов осуществляется комплексом MBW, который образуют транскрипционные факторы (ТФ), принадлежащие к семействам с доменами MYB, bHLH/MYC и WD40

(Mol et al., 1998; Adzhieva et al., 2016). Разнообразие ТФ обуславливает высокую степень изменчивости окраски у растений. В настоящее время ведутся интенсивные работы по выявлению всех компонентов комплекса MBW, контролирующих формирование пигментации в различных органах, а также в тканях зерна ячменя.

Окраска алейронового слоя зерновки. Многие исследователи начала 20-го века полагали, что голубая пигментация алейронового слоя ячменя определяется одним локусом, обозначенным G.F.H. Buckley как *Bl* (Blue vs. white aleurone, *Bl bl*) (Buckley, 1930; Faris, 1955). Было показано, что данный локус сцеплен с геном, определяющим формирование вместо остей трехлопастных придатков (фурок) (*Hoods vs. awns, K k*), и находится в группе сцепления IV (хромосома 4H) (Buckley, 1930; Robertson, 1933; Myler, Stanford 1942; Immer, Henderson 1943). Было продемонстрировано сцепление *Bl* с *Gl* (Normal vs. glossy seedlings, *Gl gl*) (Immer, Henderson, 1943) и с геном, определяющим устойчивость к мучнистой росе (*Resistance vs. susceptibility to race of mildew, Mlg mlg*) (Briggs, 1945). W.D. Hanson и H.H. Kramer (1949) выявили совместную наследуемость голубой окраски алейрона и одного из генов частичной стерильности.

Таблица 1. Клонированные и/или картированные к настоящему времени структурные и регуляторные гены биосинтеза флавоноидов ячменя

Ген	Число идентифицированных копий гена*	Номер отсеквенированной последовательности в базе данных NCBI и/или литературный источник	Хромосомная/внутрихромосомная локализация*
Структурные гены			
<i>Pal</i>	5 (Kervinen et al., 1997)	Z49145–Z49147 (Kervinen et al., 1997)	2HL, 2HS, 6HL, 3HS, 1H (Peukert et al., 2013)
<i>C4h</i>	4 (Peukert et al., 2013)	(Peukert et al., 2013)	3HL, 3HS, 7HL, 1H (Peukert et al., 2013)
<i>Chs</i>	7 (Christensen et al., 1998)	X58339 (Rohde et al., 1991) Y09233 (Christensen et al., 1998)	1HS (Pecchioni et al., 1999) 1HL, 1HS, 6HS, 2HS, 2HL, 4HS, 6HL (Peukert et al., 2013)
<i>Chi</i>	1 (Druka et al., 2003)	AF474923 (Druka et al., 2003)	5HL (Druka et al., 2003)
<i>F3h</i>	1 (Meldgaard, 1992; Khlestkina et al., 2011)	X58138 (Meldgaard, 1992)	2HL (Khlestkina et al., 2011; Peukert et al., 2013)
<i>F3'h</i>	2 (Shoeva et al., 2016; Вихорев и др., 2018)	(Shoeva et al., 2016)	1H (Shoeva et al., 2016) 6H (Вихорев и др., 2018)
<i>F3'5'h</i>	4 (Strygina et al., 2017; Вихорев и др., 2018)	MF679159–62 (Strygina et al., 2017)	4HL (Strygina et al., 2017) 6H, 7H (Вихорев и др., 2018)
<i>Dfr</i>	1 (Kristiansen, Rohde, 1991)	S69616 (Kristiansen, Rohde, 1991)	3HL (Peukert et al., 2013)
<i>Ans</i>	1 (Shoeva et al., 2016)	(Shoeva et al., 2016)	5HL (Shoeva et al., 2016)
<i>Lar</i>	1 (Bogs et al., 2005)	BN000696 (Bogs et al., 2005)	–
<i>Ufgt</i>	1 (Wise et al., 1990)	X15694 (Wise et al., 1990)	7HS (Wise et al., 1990)
Регуляторные гены			
bHLH/MYC	2, <i>Ant2/HvMyo1</i> (Cockram et al., 2010; Shoeva et al., 2016) <i>HvMyo2</i> (Strygina et al., 2017)	HM370298–387 (Cockram et al., 2010) KX035100 (Shoeva et al., 2016) MF679157–58 (Strygina et al., 2017)	2HL (Cockram et al., 2010) 4HL (Strygina et al., 2017)
MYB	3, <i>Ant1</i> (Himi, Taketa, 2015; Shoeva et al., 2015) <i>Ant28</i> (Himi et al., 2011) <i>HvMpc2</i> (Strygina et al., 2017)	(Himi, Taketa, 2015), KP265976–79 (Shoeva et al., 2015) MF679153–56 (Strygina et al., 2017)	7HS (Himi, Taketa, 2015) 3HL (Himi et al., 2011) 4HL (Strygina et al., 2017)
WD40	1, <i>HvWD40</i> (Strygina et al., 2017)	MF679149–52 (Strygina et al., 2017)	6HL (Strygina et al., 2017)

* В скобках указан литературный источник.

Первыми установили, что существует более одного фактора, определяющего голубую окраску алейронового слоя, J.L. Myler и E.H. Stanford (1942). Они показали, что при скрещивании любого из голубозерных сортов (Kwan, Algerian, Awnless) с неокрашенными сортами (Goldfoil, Hanna, Nepal) наследование признака голубой зерновки будет монофакторным. Присутствие второго комплементарного фактора (*B1/b1*) обнаружилось при скрещивании двух неокрашенных сортов Goldfoil × Nepal. В F₂ наблюдалось расщепление по фенотипу зерна – 9 голубые : 7 белые. Однако при скрещивании сортов Hanna и Goldfoil, имеющих неокрашенный алейроновый слой, все растения поколения F₁ имели неокрашенное зерно. Так, было показано, что необходим по меньшей мере один доминантный аллель в каждом локусе для проявления окраски алейрона. Генотипы растений, участвующих в этом исследовании, представлены в табл. 2.

J.L. Myler и E.H. Stanford (1942) показали, что *B1/b1* сцеплен с геном, контролирующим пленчатость ячменя (Hulled vs. naked character, *N/n*); данные факторы были локализованы в группе сцепления III (хромосома 7H). Позже

F.N. Briggs также говорит о многофакторности определения такого признака, как голубой алейрон, однако дает им противоположное название: фактор генотипа Goldfoil обозначают как *B1*, а Nepal – *B11* (Briggs, 1945). Впоследствии фактор из хромосомы 4H (Goldfoil) был переименован в *B11*, а фактор из хромосомы 7H (Nepal) – в *B12* (Faris, 1955). В 1970 г. появляются данные о том, что *B12* располагается в прицентромерном районе хромосомы 7H (Eslick, 1971).

К 1978 г. становится понятно, что голубой цвет алейрона зависит от пяти комплементарно действующих доминантных генов: *B11* (хромосома 4H), *B12* (хромосома 7H) и трех новых ранее неописанных генов *B13*, *B14* и *B15* (Finch, Simpson, 1978). Утверждается, что не известны ячмени с рецессивными аллелями более чем по одному локусу. При этом отмечается, что *B13* и *B14* тесно сцеплены с *B11*.

Для формирования окраски зерновки ячменя необходимо присутствие всех генов *B1* в доминантном состоянии (Finch, Simpson, 1978), за исключением гена *b14*, который в гомозиготном нефункциональном состоянии приводит к смене голубой окраски алейронового слоя на розовую. Свойствами, продемонстрированными *B14*, в пути био-

Таблица 2. Аллельное состояние факторов, определяющих окраску алейронового слоя у определенных сортов (по: Myler, Stanford, 1942)

Цвет алейронового слоя	Сорт	Фактор 1	Фактор 2
Голубой	Kwan	<i>Bl Bl</i>	<i>Bl1 Bl1</i>
	Algerian	<i>Bl Bl</i>	<i>Bl1 Bl1</i>
	Awnless	<i>Bl Bl</i>	<i>Bl1 Bl1</i>
Белый	Goldfoil	<i>bl bl</i>	<i>Bl1 Bl1</i>
	Hanna	<i>bl bl</i>	<i>Bl1 Bl1</i>
	Nepal	<i>Bl Bl</i>	<i>bl1 bl1</i>

синтеза флавоноидов может обладать только один ген – *F3'5'H* (см. рис. 2), который был выделен позже (Strygina et al., 2017). В дополнение к выявленным новым локусам R.A. Finch и E. Simpson (1978) показали, что существует рецессивная энхансерная последовательность *en-Bl* (enhancer of blue and pink aleurone color, *ibl*) с неизвестным местоположением, при наличии которой происходит усиление интенсивности голубой или розовой окраски.

К настоящему времени гены *Bl* переименованы в *Blx* (Non-blue aleurone xenia), стало известно их точное положение: кластер генов *Blx1*, *Blx3* и *Blx4* локализуется в прицентромерном районе длинного плеча хромосомы 4H, а *Blx2* – в прицентромерном районе хромосомы 7HL (Matthews et al., 2003).

МЫВ- и МЫС-факторы, регулирующие синтез антоцианов в алейроновом слое, и их связь с генами *Blx* долгое время были не известны. В исследовании (Strygina et al., 2017) аннотированы гены, кодирующие ТФ МЫС, МЫВ и WD40, регулирующие биосинтез антоцианов в алейроне. Эти гены были обозначены: *HvMyc2* (4HL), *HvMpc2* (4HL) и *HvWD40* (6HL). *HvMyc2* экспрессируется только в клетках алейрона, вне зависимости от окраски ткани. Для данного гена была выявлена точечная мутация сдвига рамки считывания, распространенная среди неокрашенных образцов сибирских и немецких коллекций ячменя. В отличие от тканеспецифического *HvMyc2*, экспрессия гена *HvMpc2* наблюдалась в разных тканях, однако его активность не детектировалась в неокрашенном алейроне по сравнению с окрашенным. Консервативный ген *HvWD40*, необходимый компонент регуляторного комплекса MBW, отличался постоянным уровнем экспрессии в цветных и неокрашенных тканях без какой-либо тканеспецифичности. *HvMyc2* вместе с *HvF3'5'h* (см. выше) были точно картированы в позиции кластера *Blx* в длинном плече хромосомы 4H (Matthews et al., 2003; Strygina et al., 2017), тем самым они стали кандидатами для двух из трех тесно сцепленных генов *Blx*.

Окраска перикарпа зерновки. Проявление фиолетовой окраски зерна ячменя впервые описано в 1907 г. (Biffen, 1907). На основании расщепления 3:1 в популяции F_2 показано, что фиолетовый цвет цветочных чешуй является доминантным признаком, ассоциированным с фиолетовой окраской зерновки. J.L. Myler и E.H. Stanford (1942) при работе с голозерными ячменями (генотип *PP Bl1Bl1 Bl2Bl2*, где *Pp* – Purple vs. colorless grain) показали, что цвет перикарпа – это однофакторный признак. В исследовании R.W. Woodward и J.W. Thieret (1953) впервые

продемонстрировано, что два фактора определяют окраску перикарпа; авторы наблюдали расщепление 3:1 потомства F_2 при скрещивании ячменей с фиолетовым и неокрашенным зерном и расщепление 9:7 при скрещивании двух неокрашенных родителей. Факторы были обозначены как *Pp* и *Cc*. Те же авторы обнаружили, что локус *Pp* тесно сцеплен с геном *Vv*, контролирующим двурядность (Two-row vs. six-row spike, позднее *Vrs1*). Гены *Pp* и *Cc* были локализованы в группах сцепления I и II (хромосомы 2H и 1H) соответственно. Позже было показано, что *Pp* тесно сцеплен с факторами *Pc pc* (Purple vs. white veined lemma), *Pl pl* (Purple vs. white chaff color), *Rr* (Red vs. white pericarp), *Re2 re2* (Red vs. white pericarp), контролирующими пигментацию чешуй и перикарпа (Faris, 1955; Jia et al., 2016). К настоящему времени *Cc* и *Pp* переименованы в *Pre1* и *Pre2* (Red lemma and pericarp, синоним *Re2* – Red lemma and pericarp 2, Purple lemma and pericarp) соответственно. Данные факторы контролируют развитие признака фиолетовой окраски цветковой чешуи и перикарпа ячменя (Frankowiak et al., 1997; Matthews et al., 2003).

Связь локусов *Pre2* и *Ant2* (Anthocyanin-less 2, синоним *Pr* – Purple straw) была установлена в работе Q. Jia с коллегами (2016). Ими продемонстрировано, что *Pre2* на хромосоме 2HL тесно сцеплен с микросателлитным маркером HvOs04g47170, который в свою очередь сцеплен с *Ant2* (0.1 cM между HvOs04g47170 и *Ant2*), кодирующим транскрипционный фактор с доменом bHLH (Cockram et al., 2010). Авторы провели анализ шести генов около маркера HvOs04g47170, однако ни один из этих генов, кроме *Ant2*, не показал ассоциации с окраской ушек, остей и жилок чешуй колоса. Кроме этого, выявлено, что в области 0.57 cM нет других генов-кандидатов, определяющих антоциановую окраску проанализированных органов. Результаты позволяют предположить, что *Pre2* и *Ant2* – это один и тот же ген, кодирующий транскрипционный фактор с bHLH доменом. Были определены мутации в гене *Ant2*, определяющие отсутствие окраски перикарпа. J. Cockram с коллегами (2010) идентифицировали делецию длиной 16 п. н. в шестом экзоне гена *Ant2*, приводящую к преждевременной термации трансляции у неокрашенных генотипов, а O.Y. Shoeva с коллегами (2016) детектировали мутацию в регуляторной области гена, которая, предположительно, привела к снижению экспрессии гена *Ant2* почти в 17 раз в неокрашенном перикарпе сорта Bowman по сравнению с его почти изогенной линией PLP (NGB22213, the Nordic Genetic Resource Center) с фиолетовым перикарпом.

Второй компонент (*Pre1*), контролирующий формирование фиолетовой окраски зерна, локализованный на хромосоме 1Н, не известен. Однако показан вклад в формирование признака фиолетовой окраски зерна гена *Ant1*, картированного в коротком плече хромосомы 7Н (Briggs, 1945; Fedak et al., 1972; Barley, BinMap, 2005). *Ant1* кодирует ТФ с R2R3 MYB-доменом и регулирует биосинтез антоцианов в листовом влагалище, стебле и основании растения (Himi, Taketa, 2015; Shoeva et al., 2015). На основе почти изогенной линии PLP с фиолетовым перикарпом, несущей доминантные аллели генов *Ant1* (7HS) и *Ant2* (2HL), были получены две линии с различными комбинациями аллелей данных генов: *Ant1Ant1 ant2ant2* и *ant1ant1 Ant2Ant2* (Kukoeva et al., 2016), которые в отличие от родительской линии PLP (*Ant1Ant1 Ant2Ant2*) не имели окраски перикарпа. Анализ транскрипционной активности гена *Ant2* в перикарпе полученных линий выявил, что максимальный уровень экспрессии наблюдается у родительской линии PLP (*Ant1Ant1 Ant2Ant2*), тогда как у линии *ant1ant1 Ant2Ant2* – пониженная транскрипция гена, а в перикарпе линии *Ant1Ant1 ant2ant2* ген *Ant2* не экспрессировался. Таким образом, было показано, что в присутствии доминантного аллеля гена *Ant1* происходит усиление транскрипции гена *Ant2*, что подразумевает влияние (прямое или опосредованное) белкового продукта гена *Ant1* на транскрипцию гена *Ant2*.

Окраска вегетативных органов. Существуют сведения, что мутации в локусе *Ant1* нарушают биосинтез антоцианов не только в перикарпе зерновки, но также в стебле, листовом влагалище, ушках листового влагалища, остях и колосковых чешуях (Jende-Strid, Lundqvist, 1978; Franckowiak, Lundqvist, 2012). Мутации в локусе *Ant2* приводят к отсутствию пигментации во всех вегетативных органах, включая вышеперечисленные части растения (Jende-Strid, Lundqvist, 1978). Эти данные указывают на то, что *Ant1* и *Ant2* совместно участвуют в формировании не только окраски перикарпа, но и вегетативных органов. С помощью полногеномного анализа ассоциаций (Genome-Wide Association Studies, GWAS) была показана связь гена *Ant2* с окраской ушек листовых влагалищ, чешуй колоса и остей. При этом наблюдалась экспрессия гена *Ant2* как в окрашенных, так и неокрашенных органах (Cockram et al., 2010).

Полученные в исследовании (Kukoeva et al., 2016) линии ячменя с различными комбинациями аллелей генов *Ant1* и *Ant2* позволяют оценить вклад каждого из этих генов в формирование окраски не только перикарпа, но и листового влагалища. В отличие от окраски перикарпа, для формирования которой необходимо присутствие обоих генов в доминантном состоянии, окраска листового влагалища обнаруживалась у линий, несущих ген *Ant1* в доминантном состоянии, тогда как *Ant2* мог быть как в доминантном, так и в рецессивном состоянии. Эти наблюдения указывают на ключевую роль гена *Ant1* в формировании антоциановой пигментации листового влагалища, тогда как для *Ant2* предполагается модулирующая роль.

Нами проведен анализ экспрессии структурных генов (*Chs*, *Chi*, *F3h*, *F3'h*, *Dfr*, *Ans*) в перикарпе и в листовом влагалище почти изогенных линий ячменя (Shoeva et al., 2015, 2016). Если в перикарпе все гены корегулировались

совместно в присутствии *Ant1* и *Ant2*, то в листовом влагалище наблюдался другой паттерн экспрессии генов: *Chs* экспрессировался как в окрашенном, так и неокрашенном антоцианами листовом влагалище, тогда как остальные структурные гены корегулировались совместно лишь в окрашенном листовом влагалище (Shoeva et al., 2015).

Таким образом, возможно, что одни и те же участники MBW комплекса по-разному взаимодействуют друг с другом в разных тканях, определяя тканеспецифические особенности регуляции структурных генов биосинтеза антоцианов.

Проантоцианидины оболочки зерна ячменя. С одной стороны, проантоцианидины – нежелательные соединения для пивоваренных сортов ячменя, поскольку они связываются с белками и образуют коллоидное помутнение пива, снижая его качество (von Wettstein, 2007). С другой стороны, эти соединения, накапливаемые в оболочке зерна, препятствуют преждевременному прорастанию зерна на корню и участвуют в поддержании состояния покоя зерна (Debeaujon et al., 2000; Himi et al., 2011). В связи с этим существовала потребность в исследовании генетического контроля биосинтеза проантоцианидинов в зерне ячменя, для того чтобы в дальнейшем использовать эти данные для получения сортов ячменя для конкретных целей.

Из коллекции мутантных линий ячменя, несущих мутации в локусах *Ant*, была выделена линия *ant28ant28*, характеризующаяся отсутствием проантоцианидинов в оболочке зерна, тогда как биосинтез антоцианов в вегетативных тканях не был нарушен. Активность ферментов DFR и LAR (см. рис. 2), необходимых для биосинтеза проантоцианидинов, у линии *ant28ant28* была снижена (Jende-Strid, 1993). Предполагено, что *Ant28* может кодировать регуляторный фактор, тканеспецифически контролирующий биосинтез проантоцианидинов (Himi et al., 2011). На основе сходства с нуклеотидными последовательностями генов *R-1/Tamyb10*, определяющих красную окраску зерна у пшеницы, выделена нуклеотидная последовательность *Hvmyb10* ячменя. Этот ген кодирует транскрипционный фактор с R2R3-MYB доменом и имеет высокий уровень сходства не только с генами *Tamyb10* пшеницы, но также с геном *TT2*, который совместно с генами *TT8* (bHLH) и *TTG* (WD40) контролирует биосинтез проантоцианидинов в зерне арабидопсиса (Nesi et al., 2001). У шести мутантных линий ячменя с нарушенным биосинтезом проантоцианидинов обнаружена мутация, приводящая к образованию преждевременного стоп-кодона. Разработанные на основе данного полиморфизма праймеры были использованы для картирования *Hvmyb10*, который локализуется с локусом *Ant28* в дистальном районе хромосомы 3HL (Himi et al., 2011). Таким образом, контроль биосинтеза проантоцианидинов осуществляется специфическим регуляторным фактором, не связанным с биосинтезом антоцианов. Остальные компоненты MBW комплекса, контролирующего синтез проантоцианидинов, еще не открыты.

Меланиновая пигментация у ячменя

Зерно и чешуи колоса ячменя могут иметь черную окраску, которая обусловлена меланинами (Harlan, 1914). Химическая природа данных пигментов до сих пор не установлена

из-за их сложной структуры и устойчивости к различным растворителям (Jana, Mukherjee, 2014). С помощью сравнительного анализа экспрессии структурных генов биосинтеза флавоноидов у почти изогенных линий ячменя, отличающихся окраской перикарпа зерна, показано, что черная окраска не связана с биосинтезом флавоноидов (Shoeva et al., 2016).

Образование черной окраски чешуй колоса и перикарпа зерна ячменя контролируется моногенно локусом *Blp1*, расположенным на хромосоме 1HL (Buckley, 1930; Franckowiak et al., 1997). Описаны три доминантных аллеля *Blp1.b* (*B*), *Blp1.mb* (*B^{mb}*) и *Blp1.g* (*B^g*), определяющих насыщенный черный, темный и серый цвет зерна ячменя соответственно (Woodward, 1941, 1942; Franckowiak et al., 1997).

Ввиду легкой идентификации меланиновой пигментации зерна ячменя, обнаруживаемой визуально, локус *Blp1* нанесен на многие разработанные молекулярно-генетические карты как морфологический маркер. Так, J.M. Costa с коллегами (2001) картировали локус на хромосоме 1H в позиции 129.5 cM в популяции удвоенных гаплоидов ячменя Oregon Wolfe между AFLR маркерами, ограничивающими район 126.3–132.0 cM.

Позднее локус *Blp1* был картирован на молекулярно-генетической карте хромосомы 1H, разработанной на основе популяции рекомбинантных инбредных линий, полученных в результате скрещивания сорта Naruna Nijo (белое зерно) с диким ячменем *H. vulgare* ssp. *spontaneum* H602 (черное зерно). Маркер *Blp1* был локализован в позиции 201.6 cM между EST маркерами, ограничивающими район 188.2–201.6 cM (Hori et al., 2005).

С помощью картирующей F₂ популяции Cheri (желтое зерно) × ICB181160 (черное зерно) локус *Blp1* был локализован между CAPS маркерами CAPS026 и CAPS030, ограничивающими район в 10 cM, где предсказано около 100 генов (Bungartz et al., 2016).

Предприняты попытки сузить район локализации гена *Blp1*. Используя метод секвенирования локус-специфичных ампликонов (SLAF-seq, Specific-locus amplified fragment sequencing), Q. Jia с коллегами (2017) последовательно разработали вложенные SNP маркеры и провели анализ сцепления данных маркеров с *Blp1* в картирующей популяции F₂ Hativei No.1 (черное зерно) × Zhe5819 (белое зерно). В результате район локализации *Blp1* был сужен с 5.68 до 1.66 млн п. н. На физической карте в данном районе идентифицировано 40 генов-кандидатов.

При использовании массового сегрегационного анализа (bulk segregant analysis, BSA) и полногеномного секвенирования транскриптома молекулярно-генетическая карта, разработанная на основе популяции удвоенных гаплоидов ячменя Naruna Nijo × H602, была насыщена маркерами EST. Проведенный QTL-анализ позволил сузить район локализации *Blp1* до 500 тыс. п. н. (Hisano et al., 2017).

До сих пор ген *Blp1*, контролирующий формирование черной окраски зерна ячменя, не выделен, не известны также его ортологи у других видов растений. Однако с помощью сравнительного анализа библиотек экспрессирующихся последовательностей из чешуй колоса и перикарпа зерна почти изогенных линий ячменя Bowman

(белое зерно) и BLP (NGB20470, черное зерно) показано, что признак меланиновой окраски зерна и чешуй колоса контролируется генной сетью, включающей 957 генов. Из них имеют повышенный уровень экспрессии: у линии BLP с черной окраской зерна – 623, а у неокрашенного сорта Bowman – 325 генов (Glagoleva et al., 2017). Анализ генов с дифференциальной экспрессией позволил предположить метаболические пути, определяющие биосинтез меланиновых пигментов, среди которых наиболее вероятными являются пути биосинтеза суберина, кутина, кутикулярных восков – липофильных компонентов клеточной стенки.

Заключение

К настоящему времени накоплен большой объем знаний о генетическом контроле биосинтеза пигментов у ячменя. Наиболее полно на генетическом уровне изучен метаболизм флавоноидных соединений. Открыты основные компоненты генетической сети биосинтеза флавоноидов, а также особенности ее регуляции в различных тканях. Дальнейшее исследование обнаруженного взаимодействия между регуляторными генами в совокупности с уже имеющимися данными позволит реконструировать полную генетическую регуляторную сеть биосинтеза флавоноидных соединений у ячменя, что откроет широкие возможности для контролируемого получения сортов ячменя с заданными свойствами.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 16-34-60052).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Вихорев А.В., Сtryгина К.В., Хлесткина Е.К. Идентификация и анализ генов флавоноид 3'-гидроксилазы и флавоноид 3',5'-гидроксилазы в геноме ячменя. Матер. 4-й Междунар. конф. «Генофонд и селекция растений». Новосибирск, 4-6 апреля 2018 г. Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 2018;79-83.
- Тараховский Ю.С., Ким Ю.А., Абдралилов Б.С., Музафаров Е.Н. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. Пушкино: Synchrobook, 2013.
- Aastrup S., Outtrup H., Erdal K. Location of the proanthocyanidins in the barley grain. Carlsberg Res. Commun. 1984;49:105-109. DOI 10.1007/BF02913969.
- Adzhieva V.F., Babak O.G., Shoeva O.Y., Kilchevsky A.V., Khlestkina E.K. Molecular genetic mechanisms of the development of fruit and seed coloration in plants. Russ. J. Genet. Appl. Res. 2016;6(5): 537-552. DOI 10.1134/S2079059716050026.
- Barley, BinMap 2005. GrainGenes Map Data Report. Available at: <http://wheat.pw.usda.gov/cgi-bin/graingenes/report.cgi?class=map&ata&name=Barley,+BinMap+2005>.
- Biffen R.H. The hybridisation of barleys. J. Agric. Sci. 1907;2(2):183-206. DOI 10.1017/S0021859600001271.
- Bogs J., Downey M.O., Harvey J.S., Ashton A.R., Tanner G.J., Robinson S.P. Proanthocyanidin synthesis and expression of genes encoding leucoanthocyanidin reductase and anthocyanidin reductase in developing grape berries and grapevine leaves. Plant Physiol. 2005; 139(2):652-663. DOI 10.1104/pp.105.064238.
- Briggs F.N. Linkage relations of factors for resistance to mildew in barley. Genetics. 1945;30(2):115-118.

- Buckley G.F.H. Inheritance in barley with special reference to the color of caryopsis and lemma. *Sci. Agric.* 1930;10(7):460-492. DOI 10.4141/sa-1930-0021.
- Bunea A., Rugină D., Sconța Z., Pop R.M., Pintea A., Socaciu C., Tăbăran F., Grootaert C., Struijs K., VanCamp J. Anthocyanin determination in blueberry extracts from various cultivars and their antiproliferative and apoptotic properties in B16-F10 metastatic murine melanoma cells. *Phytochemistry*. 2013;95:436-444. DOI 10.1016/j.phytochem.2013.06.018.
- Bungartz A., Klaus M., Mathew B., Léon J., Naz A.A. Development of new SNP derived cleaved amplified polymorphic sequence marker set and its successful utilization in the genetic analysis of seed color variation in barley. *Genomics*. 2016;107(2):100-107. DOI 10.1016/j.ygeno.2015.12.007.
- Choo T.M., Vigier B., Ho K.M., Ceccarelli S., Grando S., Franckowiak J.D. Comparison of black, purple, and yellow barleys. *Genet. Resour. Crop. Evol.* 2005;52(2):121-126. DOI 10.1007/S10722-003-3086-4.
- Christensen A.B., Gregersen P.L., Schröder J., Collinge D.B. A chalcone synthase with an unusual substrate preference is expressed in barley leaves in response to UV light and pathogen attack. *Plant Mol. Biol.* 1998;37(5):849-857.
- Cockram J., White J., Zuluaga D.L., Smith D., Comadran J., Macaulay M., Luo Z., Kearsey M.J., Werner P., Harrap D., Tapsell C., Liu H., Hedley P.E., Stein N., Schulte D., Steuernagel B., Marshall D.F., Thomas W.T., Ramsay L., Mackay I., Balding D.J., The AGOUEB Consortium, Waugh R., O'Sullivan D.M. Genome-wide association mapping to candidate polymorphism resolution in the unsequenced barley genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010;107(50):21611-21616. DOI 10.1073/pnas.1010179107.
- Costa J.M., Corey A., Hayes P.M., Jobet C., Kleinhofs A., Kopisch-Obusch A., Kramer S.F., Kudrna D., Li M., Riera-Lizarazu O., Sato K., Szucs P., Toojinda T., Vales M.I., Wolfe R.I. Molecular mapping of the Oregon Wolfe Barleys: a phenotypically polymorphic doubled-haploid population. *Theor. Appl. Genet.* 2001;103(2-3):415-424.
- Debeaujon I., Léon-Kloosterziel K.M., Koornneef M. Influence of the testa on seed dormancy, germination, and longevity in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 2000;122:403-414. DOI https://doi.org/10.1104/pp.122.2.403.
- Di Ferdinando M., Brunetti C., Fini A., Tattini M. Flavonoids as antioxidants in plants under abiotic stresses. Ed. P. Ahmad, M.N.V. Prasad. *Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability*. N. Y.: Springer, 2012;159-179. DOI 10.1007/978-1-4614-0634-1_9.
- Druka A., Kudrna D., Rostoks N., Brueggeman R., von Wettstein D., Kleinhofs A. Chalcone isomerase gene from rice (*Oryza sativa*) and barley (*Hordeum vulgare*): physical, genetic and mutation mapping. *Gene*. 2003;302:171-178. DOI 10.1016/S0378-1119(02)01105-8.
- Eslick R.F. Balanced male steriles and dominant pre-flowering selective genes for use in hybrid seed production. *Barley Genetics II*. 1971; 292-297.
- Faris D.G. Physiology and genetics of the kernel color of barley. Doctoral dissertation, University of British Columbia, 1955.
- Fedak G., Tsuchiya T., Helgason S.B. Use of monotelotrisomics for linkage mapping in barley. *Can. J. Genet. Cytol.* 1972;14:949-957. DOI 10.1139/g72-117.
- Finch R.A., Simpson E. New colours and complementary colour genes in barley. *Z. Pflanzenzüchtg.* 1978;81:40-53.
- Franckowiak J.D., Lundqvist U. Descriptions of barley genetic stocks for 2012. *Barley Genet. Newsl.* 2012;42:36-173.
- Franckowiak J.D., Lundqvist U., Konishi T. New and revised descriptions of barley genes. *Barley Genet. Newsl.* 1997;26:22-516.
- Glagoleva A., Shmakov N., Shoeva O., Vasiliev G., Shatskaya N., Börner A., Afonnikov D.A., Khlestkina E.K. Metabolic pathways and genes identified by RNA-seq analysis of barley near-isogenic lines differing by allelic state of the *Black lemma and pericarp* (*Blp*) gene. *BMC Plant Biol.* 2017;17(1):182. DOI 10.1186/s12870-017-1124-1.
- Gould K., Davies K.M., Winefield C. *Anthocyanins: Biosynthesis, Functions, and Applications*. N. Y. Media: Springer Science & Business, 2009.
- Grotewold E. *The Science of Flavonoids*. N. Y.: Springer, 2006.
- Hanson W.D., Kramer H.H. The genetic analysis of two chromosome interchanges in barley from F₂ data. *Genetics*. 1949;34(6):687-700.
- Harlan H.V. Some distinctions in our cultivated barleys with reference to their use in plant breeding. *US Dept. Agric. Bul.* 1914;137:38. DOI 10.5962/bhl.title.109258.
- Himi E., Taketa S. Isolation of candidate genes for the barley *Ant1* and wheat *Rc* genes controlling anthocyanin pigmentation in different vegetative tissues. *Mol. Genet. Genomics*. 2015;290(4):1287-1298. DOI 10.1007/s00438-015-0991-0.
- Himi E., Yamashita Y., Haruyama N., Yanagisawa T., Maekawa M., Taketa S. *Ant28* gene for proanthocyanidin synthesis encoding the R2R3 MYB domain protein (*Hvmyb10*) highly affects grain dormancy in barley. *Euphytica*. 2011;188(1):141-151. DOI 10.1007/s10681-011-0552-5.
- Hisano H., Sakamoto K., Takagi H., Terauchi R., Sato K. Exome QTL-seq maps monogenic locus and QTLs in barley. *BMC Genomics*. 2017;18(1):125. DOI 10.1186/s12864-017-3511-2.
- Hori K., Kobayashi T., Sato K., Takeda K. QTL analysis of Fusarium head blight resistance using a high-density linkage map in barley. *Theor. Appl. Genet.* 2005;111(8):1661-1672. DOI 10.1007/s00122-005-0102-4.
- Hui C., Bin Y., Xiaoping Y., Long Y., Chunye C., Mantian M., Wenhua L. Anticancer activities of an anthocyanin-rich extract from black rice against breast cancer cells in vitro and in vivo. *Nutr. Cancer*. 2010;62:1128-1136. DOI 10.1080/01635581.2010.494821.
- Immer F.R., Henderson M.T. Linkage studies in barley. *Genetics*. 1943; 28(5):419-440.
- Jana B.K., Mukherjee S.K. Notes on the distribution of phytomelanin layer in higher plants – a short communication. *J. Pharmaceutical Biol.* 2014;4:131-132.
- Jende-Strid B. Genetic control of flavonoid biosynthesis in barley. *Hereditas*. 1993;119:187-204. DOI 10.1111/j.1601-5223.1993.00187.x.
- Jende-Strid B., Lundqvist U. Diallelic tests of anthocyanin-deficient mutants. *Barley Genet. Newsl.* 1978;8:57-59.
- Jia Q., Wang J., Zhu J., Hua W., Shang Y., Yang J., Liang Z. Toward identification of black lemma and pericarp gene *Blp1* in barley combining bulked segregant analysis and specific-locus amplified fragment sequencing. *Front. Plant Sci.* 2017;8:1414. DOI 10.3389/fpls.2017.01414.
- Jia Q., Zhu J., Wang J., Yang J., Zhang G. Genetic mapping and molecular marker development for the gene *Pre2* controlling purple grains in barley. *Euphytica*. 2016;208:215-223. DOI 10.1007/s10681-015-1593-y.
- Kervinen T., Peltonen S., Utriainen M., Kangasjarvi J., Teeri T.H., Karjalainen R. Cloning and characterization of cDNA clones encoding phenylalanine ammonia-lyase in barley. *Plant Sci.* 1997;123(1):143-150. DOI 10.1016/S0168-9452(96)04570-0.
- Khlestkina E.K. The adaptive role of flavonoids: emphasis on cereals. *Cereal Res. Commun.* 2013a;41:185-198. DOI 10.1556/CRC.2013.0004.
- Khlestkina E.K. Genes determining the coloration of different organs in wheat. *Russ. J. Genet. Appl. Res.* 2013b;3(1):54-65. DOI 10.1134/S2079059713010085.
- Khlestkina E., Salina E., Matthies I., Leonova I., Börner A., Röder M. Comparative molecular marker-based genetic mapping of flavanone 3-hydroxylase genes in wheat, rye and barley. *Euphytica*. 2011;179:333-341. DOI 10.1007/s10681-010-0337-2.
- Kim M.J., Hyun J.N., Kim J.A., Park J.C., Kim M.Y., Kim J.G., Lee S.J., Chun S.C., Chung I.M. Relationship between phenolic compounds, anthocyanins content and antioxidant activity in colored barley germplasm. *J. Agric. Food Chem.* 2007;55:4802-4809. DOI 10.1021/jf0701943.

- Kristiansen K.N., Rohde W. Structure of the *Hordeum vulgare* gene encoding dihydroflavonol-4-reductase and molecular analysis of *antl8* mutants blocked in flavonoid synthesis. *Mol. Gen. Genet.* 1991; 230:49-59. DOI 10.1007/BF00290650.
- Kukoeva T., Gordeeva E., Glagoleva A., Shoeva O., Börner A., Khlestkina E. Purple-grained barley: marker-assisted development of NILs and genetic dissection. *Proc. of the 1st Int. Workshop "Plant Genetics and Genomics for Food Security"*. Novosibirsk, 26-28 August 2016. Novosibirsk, 2016;29.
- Loskutov I.G., Blinova E.V., Gavrilova O.P., Gagkaeva T.Y. The valuable characteristics of oats genotypes and resistance to *Fusarium* disease. *Russ. J. Genet. Appl. Res.* 2016;20(3):286-294. DOI 10.18699/VJ16.151.
- Lundqvist U., Franckowiak J.D. Diversity of barley mutants. Eds. R. von Bothmer, T. van Hintum, H. Knüpfner, K. Sato. *Diversity in barley (Hordeum vulgare)*. Amsterdam: Elsevier, 2003;77-96.
- Matthews D.E., Carollo V.L., Lazo G.R., Anderson O.D. GrainGenes, the genome database for small-grain crops. *Nucleic Acids Res.* 2003;31(1):183-186. DOI 10.1093/nar/gkg058.
- Mauray A., Felgines C., Morand C., Mazur A., Scalbert A., Milenkovic D. Bilberry anthocyanin-rich extract alters expression of genes related to atherosclerosis development in aorta of apo E-deficient mice. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2012;22(1):72-80. DOI 10.1016/j.numecd.2010.04.011.
- Meldgaard M. Expression of chalcone synthase, dihydroflavonol reductase, and flavanone-3-hydroxylase in mutants of barley deficient in anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis. *Theor. Appl. Genet.* 1992;83:695-706.
- Mol J., Grotewold E., Koes R. How genes paint flowers and seeds. *Trends Plant Sci.* 1998;3:212-217.
- Myler J.L., Stanford E.H. Color inheritance in barley. *J. Am. Soc. Agron.* 1942;34:427-436.
- Nesi N., Jond C., Debeaujon I., Caboche M., Lepiniec L. The *Arabidopsis TT2* gene encodes an R2R3 MYB domain protein that acts as a key determinant for proanthocyanidin accumulation in developing seed. *Plant Cell.* 2001;13(9):2099-2114. DOI 10.1105/TPC.010098.
- Pecchioni N., Vale G., Toubia-Rahme H., Faccioli P., Terzi V., Delogu G. Barley-Pyrenophora graminea interaction: QTL analysis and gene mapping. *Plant Breed.* 1999;118(1):29-35. DOI 10.1046/j.1439-0523.1999.118001029.x.
- Peukert M., Weise S., Röder M.S., Matthies I.E. Development of SNP markers for genes of the phenylpropanoid pathway and their association to kernel and malting traits in barley. *BMC Genet.* 2013;14:97. DOI 10.1186/1471-2156-14-97.
- Reddivari L., Vanamala J., Chintharlapalli S., Safe S.H., Miller Jr J.C. Anthocyanin fraction from potato extracts is cytotoxic to prostate cancer cells through activation of caspase-dependent and caspase-independent pathways. *Carcinogenesis.* 2007;28(10):2227-2235. DOI 10.1093/carcin/bgm117.
- Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med.* 1996;20(7):933-956. DOI 10.1016/0891-5849(95)02227-9.
- Robertson D.W. Inheritance in barley. *Genetics.* 1933;18(2):148-158.
- Rohde W., Barzen E., Marocco A., Schwarz-Sommer Z., Saedler H., Salamini F. Isolation of genes that could serve as traps for transposable elements in *Hordeum vulgare*. *Okayama, Barley Genetics V. Proc. 5th Int. Barley Genet. Symp.* (Eds. S. Yasuda, T. Konishi). Okayama, 1987;553-541.
- Rohde W., Dörr S., Salamini F., Becker D. Structure of a chalcone synthase gene from *Hordeum vulgare*. *Plant Mol. Biol.* 1991;16:1103-1106.
- Shoeva O.Y., Kukoeva T.V., Börner A., Khlestkina E.K. Barley *Ant1* is a homolog of maize *C1* and its product is part of the regulatory machinery governing anthocyanin synthesis in the leaf sheath. *Plant Breed.* 2015;134:400-405. DOI 10.1111/pbr.12277.
- Shoeva O.Y., Mock H.P., Kukoeva T.V., Börner A., Khlestkina E.K. Regulation of the flavonoid biosynthesis pathway genes in purple and black grains of *Hordeum vulgare*. *PLoS ONE.* 2016;11(10):e0163782. DOI 10.1371/journal.pone.0163782.
- Stratthearn K.E., Yousef G.G., Grace M.H., Roy S.L., Tambe M.A., Ferruzzi M.G., Wu Q.L., Simon J.E., Lila M.A., Rochet J.C. Neuroprotective effects of anthocyanin and proanthocyanidin-rich extracts in cellular models of Parkinson's disease. *Brain Res.* 2014;1555:60-77. DOI 10.1016/j.brainres.2014.01.047.
- Strygina K.V., Börner A., Khlestkina E.K. Identification and characterization of regulatory network components for anthocyanin synthesis in barley aleurone. *BMC Plant Biol.* 2017;17(1):184. DOI 10.1186/s12870-017-1122-3.
- Szajdek A., Borowska E.J. Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits: a review. *Plant Foods Hum. Nutr.* 2008; 63:147. DOI 10.1007/s11130-008-0097-5.
- The International Barley Genome Sequencing Consortium. A physical, genetic and functional sequence assembly of the barley genome. *Nature.* 2012;491:711-717. DOI 10.1038/nature11543.
- von Wettstein D. From analysis of mutants to genetic engineering. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2007;58:1-19. DOI 10.1146/annurev.arplant.58.032806.104003.
- Winkel-Shirley B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiol.* 2001;126(2):485-493. DOI 10.1104/pp.126.2.485.
- Wise R.P., Rohde W., Salamini F. Nucleotide sequence of the *Bronze-1* homologous gene from *Hordeum vulgare*. *Plant Mol. Biol.* 1990; 14(2):277-279.
- Woodward R.W. Inheritance of melanin-like pigment in the glumes and caryopses of barley. *J. Agric. Res.* 1941;63:21-28.
- Woodward R.W. Linkage relationships between the allelomorphous series, B, B^{mb}, B^g, and A₁A₂ factors in barley. *J. Am. Soc. Agron.* 1942; 34:659-661.
- Woodward R.W., Thieret J.W. A Genetic study of complementary genes for purple lemma, palea, and pericarp in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Agron. J.* 1953;45(5):182-185.
- Youdim K.A., Kaiser M.Z., Begley D.J., Rice-Evans C.A., Abbott N.J. Flavonoid permeability across an in situ model of the blood-brain barrier. *Free Radic. Biol. Med.* 2004;36(5):592-604. DOI 10.1016/j.freeradbiomed.2003.11.023.
- Zhou X., Chao M., Liang X. Screening and testing of barley varieties for scab resistance (in Chinese with English abstract). *Acta Phytolacica Sin.* 1991;18:261-265.



Селекция на содержание антиоксидантов в зерне как перспективное направление для получения продуктов здорового питания

В.И. Полонский¹, И.Г. Лоскутов^{2, 3}✉, А.В. Сумина⁴

¹ Красноярский государственный аграрный университет, Красноярск, Россия

² Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

³ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Хакасский государственный университет им. Н.В. Катанова, Абакан, Россия

Согласно Доктрине продовольственной безопасности Российской Федерации, в ближайшей перспективе предполагается расширение ассортимента продуктов здорового питания. Вследствие этого необходим поиск соответствующих пищевых источников. К веществам, способствующим профилактике ряда серьезных заболеваний человека, относятся антиоксиданты, а одним из важных параметров качества пищевых продуктов и ингредиентов выступает их антиоксидантная активность. В настоящее время суммарное содержание антиоксидантов и их антиоксидантная активность достаточно полно установлены в овощах и фруктах. При этом найдено, что по сравнению с эквивалентным количеством мягких фруктов или широко употребляемых в пищу овощей цельное зерно злаков обеспечивает более высокое количество связанных полифенолов. Последние включаются в обмен веществ в толстой кишке и могут обеспечивать тем самым положительное влияние на здоровье человека. На примере 30 различных коммерческих зерновых завтраков показано, что содержащиеся в средней порции хлопьев, приготовленных на овсяной основе, уровни полифенолов сопоставимы с таковыми, находящимися в эквивалентном количестве овощей и фруктов. Известно, что зерно овса и ячменя имеет высокую питательную ценность, содержит ненасыщенные жирные кислоты, основные минеральные элементы, белки и бета-глюканы (самые высокие уровни среди зерновых злаков), а также характеризуется наличием разнообразных химических веществ с антиоксидантными свойствами. В последние годы в некоторых западных странах начаты работы по изучению содержания антиоксидантов в зерне различных культурных злаков. В России лишь небольшое количество работ посвящено исследованию этих важных химических соединений в зерне овса и ячменя. Следует отметить, что, хотя зерновые культуры считаются одним из основных компонентов питания человека, исследований в области определения их антиоксидантной активности проведено недостаточно. С целью привлечения внимания российских растениеводов, селекционеров, физиологов растений, генетиков и биотехнологов к указанной проблеме читателю предлагается обзор современной литературы.

Ключевые слова: пшеница; ячмень; овес; кукуруза; антиоксиданты; флавоноиды; фенольные кислоты; липопротеиды; зерновка; генотип; внешняя среда; селекция; переработка.

Breeding for antioxidant content in grain as a promising trend in obtaining healthy food products

V.I. Polonskiy¹, I.G. Loskutov^{2, 3}✉, A.V. Sumina⁴

¹ Krasnoyarsk State Agrarian University, Krasnoyarsk, Russia

² N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia

³ St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

⁴ Katanov Khakass State University, Abakan, Russia

According to the Food Security Doctrine of the Russian Federation, there are plans for the nearest future to expand the assortment of healthy food products for the country's population, so a search for relevant food sources is needed. The substances that may aid to prevent a number of serious human diseases include antioxidants, while one of the important quality parameters in food products and their ingredients is their antioxidant activity. Today, the aggregate content of antioxidants and their antioxidant activity have been identified with sufficient accuracy for vegetables and fruits. At the same time, the whole cereal grain has been found to provide higher quantities of bound polyphenols than the equivalent portion of soft fruits or widely consumed vegetables. These compounds are available for metabolism in the large intestine, and thus can produce a beneficial effect on human health. Additionally, a case study of 30 different breakfast cereals has shown that the levels of polyphenols in an average portion of oat-based cereals (40 g) are matchable with those of vegetables or fruits. It is widely known that oat and barley grains have high nutritional value, contain unsaturated fatty acids, basic minerals, proteins and β -glucans (the highest levels among cereal crops), and are characterized by the presence of diverse chemicals with antioxidant properties. In recent years, research efforts have been started in a number of Western countries to analyze the content of antioxidants in the grain of various cereal crops. In today's Russia, only a small number of works are dedicated to studying these important chemical compounds in oat and barley grain. It should be mentioned that, although cereal crops are recognized as one of the main components in human diet, the research conducted to determine their antioxidant activity has clearly been insufficient. In order to attract the attention of Russian plant scientists, plant breeders, plant physiologists,



geneticists and biotechnologists, a survey of modern publications on this problem is presented.

Key words: wheat; barley; oat; maize; antioxidants; flavonoids; phenolic acids; lipoproteins; kernel; genotype; environment; breeding; processing.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Полонский В.И., Лоскутов И.Г., Сумина А.В. Селекция на содержание антиоксидантов в зерне как перспективное направление для получения продуктов здорового питания. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(3):343-352. DOI 10.18699/VJ18.370

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Polonskiy V.I., Loskutov I.G., Sumina A.V. Breeding for antioxidant content in grain as a promising trend in obtaining healthy food products. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(3):343-352. DOI 10.18699/VJ18.370 (in Russian)

Антиоксидантом называют любое вещество, задерживающее, предотвращающее или удаляющее окислительное повреждение молекулы-мишени (Halliwell, 2007), которое производят свободные радикалы, запускающие несколько цепных реакций. Антиоксиданты способствуют удалению свободных радикалов путем самоокисления, останавливая, таким образом, цепные реакции (Shebis et al., 2013). В живых клетках существуют две основные группы антиоксидантов: ферментативные и неферментативные. Группы в свою очередь состоят из нескольких подгрупп. Ферментативные антиоксиданты подразделяются на первичные и вторичные ферменты защиты. Основная защита базируется на функционировании трех важных ферментов, которые предотвращают образование свободных радикалов и их нейтрализуют: глутатионпероксидаза, супероксиддисмутаза и каталаза. Вторичная ферментативная защита включает глутатионредуктазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Эти ферменты поддерживают первичную защиту, косвенно нейтрализуя свободные радикалы. Группа неэнзимных антиоксидантов делится на несколько подгрупп, основными из них являются: витамины (А, Е, С), ферментные кофакторы (Q10), минералы (цинк и селен), пептиды (глутатион), фенольные кислоты, а также полифенолы, соединения серы, лигнин и фитиновая кислота (Fardet, 2010; Shebis et al., 2013).

Антиоксиданты представляют собой совокупность гидрофильных и гидрофобных метаболитов, участвующих в защитных и регуляторных реакциях клетки. Главная их функция в клетке заключается в обезвреживании активных форм кислорода и свободных радикалов, возникающих, как правило, при действии неблагоприятных экологических факторов. Уровень устойчивости конкретного растения к окислительному стрессу определяется содержанием и составом антиоксидантов, а также скоростью их синтеза, накопления и расходования, который контролируется генотипом (Гинс М.С., Гинс В.К., 2015). Самые сильные природные антиоксиданты – флавоноиды, более слабые – витамины Е, С и каротиноиды (Яшин и др., 2012). Наряду с флавоноидами к сильным антиоксидантам относятся фенольные кислоты – производные бензойной и коричной кислот. Суммарное содержание рассматриваемых веществ и их активность довольно полно установлены в овощах, фруктах и напитках, однако в настоящее время выполнено недостаточно исследований, посвященных определению антиоксидантной активности зерновых культур, несмотря на то, что они относятся к основным компонентам питания

(Яшин, 2008; Яшин и др., 2012). В России результаты изучения этих важных химических соединений в зерне овса и ячменя описаны лишь в небольшом количестве работ (Лоскутов, 2007; Loskutov, Rines, 2011; Лоскутов и др., 2016; Полонский и др., 2016a).

Влияние антиоксидантов на здоровье человека

В последние годы наблюдается повышенный интерес к применению антиоксидантов для профилактики заболеваний и лечения, так как развитие болезней у человека во многом связывается с окислительным стрессом (Hurtado-Fernández et al., 2010). В условиях ухудшения качества окружающей среды, потребления недостаточно разнообразной пищи, постоянного нервного напряжения организм человека может подвергаться разрушающему действию свободных радикалов, что в итоге с определенной вероятностью сопровождается развитием окислительного стресса (Федина и др., 2010). Исследования, выполненные в разных странах, подтверждают, что одной из основных причин патологических изменений в человеческом организме, приводящих к преждевременному старению и развитию многих болезней, в том числе самых опасных, таких как сердечно-сосудистые и онкологические заболевания, служит избыточное содержание в биологических жидкостях свободных кислородных радикалов. Наиболее активные свободные радикалы могут разрывать связи в молекуле ДНК, повреждать генетический аппарат клеток, регулирующий их рост, что вызывает онкологические заболевания. Липопротеиды низкой плотности после окисления часто откладываются на стенках сосудов, это сопровождается развитием атеросклероза и прогрессированием сердечно-сосудистых заболеваний. Суть известной свободно-радикальной теории старения и возникновения хронических заболеваний состоит в том, что на протяжении всей жизни происходит накопление повреждений, вызванных свободными радикалами. Все это приводит к повышенному риску возникновения болезней и инвалидности (Gupta, Prakash, 2015). От воздействия свободных радикалов здоровый организм защищает естественная антиоксидантная система, содержащая ферментные и неферментные вещества, нейтрализующие вредное влияние активных форм кислорода (Яшин, 2008).

К мощным антиоксидантам, способным нейтрализовать свободные радикалы, относится витамин Е. В настоящее время известно восемь встречающихся в природе изоформ витамина Е: α -, β -, γ - и δ -токоферолы и α -, β -, γ - и δ -токотриенолы. Вполне вероятно, что некоторые изофор-

мы витамина Е могут быть терапевтическими средствами против ряда серьезных болезней человека, кроме рака (Peh et al., 2016). Токотриенолы – формы природного витамина Е – обладают превосходными антиоксидантными, противовоспалительными, нейропротекторными свойствами, которые часто не демонстрирует токоферол (Sen et al., 2007; Peh et al., 2016). Кверцетин – один из наиболее распространенных и сильных антиоксидантов в природе. Он характеризуется множеством биологических эффектов, в том числе антитромбоцитарной активностью (Branković et al., 2015).

Другие антиоксиданты – диетические полифенолы, присутствующие в растениях, представляют собой химические соединения с широким спектром биологических функций, таких как антиоксидантная, противовоспалительная, антитромботическая, противораковая, омолаживающая. Это позволяет им проявлять хорошие защитные свойства при патологических состояниях организма, вызванных окислительным стрессом. Кроме того, диетические полифенолы выступают потенциальным профилактическим средством против ожирения (Tucakovic et al., 2015). Антиоксидантный потенциал зерновых и составляющих их фракций в значительной мере коррелирует с содержанием в них полифенолов (Fardet et al., 2008). Существует доказательство того, что увеличение потребления различных фенольных соединений, присутствующих в продуктах питания, может снизить риск нарушений здоровья благодаря их антиоксидантной активности (Finley, 2005; Shahidi, Ambigaipalan, 2015). К основным источникам пищевых полифенолов, кроме фруктов и овощей, относятся зерновые и бобовые растения (ячмень, кукуруза, орехи, овес, рис, сорго, пшеница, фасоль, бобы), масличные культуры (семена рапса и льна).

Еще одна группа антиоксидантов – фенольные кислоты (кумаровая, феруловая, кофейная и синаповая) – найдена в различных продуктах питания, в том числе в зерновых продуктах, изготовленных из риса и ячменя (Li et al., 2010). В результате анализа зерна ржи, пшеницы, ячменя, проса, риса, кукурузы, овса и сорго установлены производные как бензойной кислоты (галловая, салициловая, ванилиновая, сиреневая, протокатехиновая и гидроксibenзойная), так и коричной кислоты (феруловая, кофейная, кумаровая, синаповая) (Dykes, Rooney, 2007). Феруловая кислота, как известно, – диетический антиоксидант, который может тормозить развитие онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний, диабета и болезни Альцгеймера (Zhao, Moghadasian, 2008).

В литературе указывается на то, что пищевые волокна бета-глюканы могут служить в качестве натуральных антиоксидантов. При этом одним из решающих факторов для антиоксидантной активности бета-глюканов выступает их молекулярная масса (Du, Xu, 2014).

В последнее десятилетие на первый план выходят биофлавоноиды, обладающие антиканцерогенными, антисклеротическими, противовоспалительными и антиаллергическими свойствами и по антиоксидантной активности в десятки раз превосходящие витамины Е, С и бета-каротин (Яшин, 2008).

Цельнозерновые крупы – хороший источник многих антиоксидантов: витамина Е, фолиевой кислоты, феноль-

ных соединений, каротиноидов, фитиновой кислоты, цинка, железа, селена, меди, марганца, которые имеют значительный антиоксидантный потенциал *in vitro*. Установлено, что в процессе пищеварения антиоксидантная способность зерновых увеличивается (Fardet et al., 2008). Проведенные эпидемиологические исследования показали, что продукты из цельного зерна злаков могут защитить организм от ожирения, диабета, сердечно-сосудистых и других серьезных заболеваний (Fardet, 2010). В клинических испытаниях на людях продемонстрировано, что зерно овса, содержащее уникальные химические вещества, авенантрамиды, обладает противовоспалительными и антиоксидантными свойствами, снижающими выраженность ишемической болезни сердца (Gao et al., 2015). Овес характеризуется присутствием целого ряда компонентов с повышенной антиоксидантной активностью и наличием заметного потенциала для физиологической профилактики против действия окислителя. Как известно, овес относится к безглютеновым хлебным продуктам (Hüttner, Arendt, 2010), его зерно имеет высокое содержание витамина Е и других антиоксидантных соединений, включая фенольные кислоты, авенантрамиды, низкомолекулярные бета-глюканы (Лоскутов, 2007; Sontag-Strohm et al., 2008; Loskutov, Rines, 2011; Лоскутов, Полонский, 2017; Leonova et al., 2018). Последние, как показано в экспериментах на здоровых крысах, действуют синергически с растворимыми антиоксидантами и вызывают снижение перекисного окисления липидов в плазме крови животных (Suchecka et al., 2015). Однако физиологическое значение овсяных антиоксидантов изучено еще довольно слабо (Liu, 2010).

Следовательно, антиоксиданты – важная составляющая наиболее распространенных активных ингредиентов в функциональных пищевых продуктах. Согласно ГОСТ Р 52349-2005 (2005), к последним относят специальные пищевые продукты, предназначенные для систематического употребления в составе пищевых рационов всеми возрастными группами здорового населения, обладающие научно обоснованными и подтвержденными свойствами, снижающими риск развития заболеваний, связанных с питанием, предотвращающие или восполняющие имеющийся в организме человека дефицит питательных веществ, сохраняющие и улучшающие здоровье за счет наличия в их составе функциональных пищевых ингредиентов. В настоящее время к прогрессивным направлениям в развитии производства продуктов функционального питания относится создание обогащенных продуктов на основе зерна. В силу невысокой стоимости исходного сырья такие продукты доступны широким слоям населения и способны компенсировать недостаток биологически активных веществ в рационе, повысить сопротивляемость организма к неблагоприятным факторам внешней среды и, таким образом, увеличить продолжительность жизни населения (Бережная и др., 2015).

Содержание антиоксидантов в различных растениях

Суммарная концентрация антиоксидантов и их антиоксидантная активность достаточно полно установлены в овощах, фруктах и напитках (Manach et al., 2004; Dias, 2012;

Calado et al., 2015). При этом выполнено относительно малое количество исследований в области определения антиоксидантной активности зерновых культур, несмотря на то, что они считаются важными компонентами питания, включая и средиземноморскую диету (Яшин и др., 2012). Среди культурных злаков найдены межвидовые различия в общем содержании в целых зернах антиоксидантов, в частности фенольных соединений, а также каротиноидов и токоферолов. Этот эффект был продемонстрирован в результате исследования химических экстрактов, полученных из цельного зерна овса, ржи, ячменя, кукурузы, тритикале, твердой и мягкой пшеницы (Adom, Liu, 2002; Menga et al., 2010; Žilić et al., 2011). Сравнительное изучение различных антиоксидантов в цельном зерне голозерного ячменя, голозерного овса, ржи, мягкой и твердой пшеницы позволило обнаружить самое высокое содержание свободных фенолов и флавоноидов в зерне голозерного ячменя, а токоферолов, желтых пигментов и связанных фенольных соединений – в зерне голозерного овса. По снижению антиоксидантной активности указанные виды злаков распределились так: голозерный ячмень, рожь, голозерный овес, твердая и мягкая пшеница (Zieliński, Kozłowska, 2000; Ragaee et al., 2006; Zduńczyk et al., 2006; Žilić et al., 2011).

Как известно, основная часть фенольных соединений в зерне находится в связанном виде (85 % в зерне кукурузы, 76 % – пшеницы, 75 % – овса, 62 % – риса) (Adom, Liu, 2002; Liu, 2007). На примере 20 образцов голозерного и пленчатого ячменя продемонстрировано наличие в зерне нерастворимых связанных фенольных кислот (Yoshida et al., 2010). Среди фенольных соединений в зерне ряда злаков доминировала феруловая кислота, которая присутствовала практически лишь в связанном состоянии (Adom, Liu, 2002; Hosseini, Mazza, 2009; Das, Singh, 2015). Зерновые культуры в порядке убывания антиоксидантных свойств расположились следующим образом: ячмень, рожь, овес, пшеница (Tufan et al., 2013).

Готовые к употреблению зерновые продукты сравнивали по наличию фенолов с мягкими фруктами и другими часто употребляемыми в пищу овощами и фруктами. Как показано на 18 мексиканских образцах хлеба из различных сортов ржи, антиоксидантная активность зерновых зависит от уникального профиля антоцианов, фенольных и других соединений в каждом фенотипе (Zieliński et al., 2007; Lopez-Martinez et al., 2009). Кроме того, антиоксидантный потенциал зерновых обусловлен их биодоступностью и всасыванием в желудочно-кишечном тракте (Masisi, Beta, 2016).

Другие зерновые виды сельскохозяйственных культур также содержат значительные количества антиоксидантов. В цельном зерне проса идентифицировано более 50 фенольных соединений, поэтому просо может служить в качестве источника природных антиоксидантов (Chandrasekara, Shahidi, 2011; Chandrasekara et al., 2012; Shahidi, Chandrasekara, 2013; Pradeep, Sreerama, 2015). В зерне кукурузы отмечено высокое содержание феруловой кислоты, трех важных флавоноидов и найдена значительная антиоксидантная активность. Указанную сельскохозяйственную культуру можно рассматривать как потенциальный источник антиоксидантов в функциональных пищевых

продуктах (Adom, Liu, 2002; Žilić et al., 2011; Guo, Beta, 2013; Das, Singh, 2015).

У местных и селекционных сортов риса из Шри-Ланки установлено, что зерно (особенно отруби) обладает заметными антиоксидантными свойствами (Premakumara et al., 2013). В плане содержания антиоксидантных соединений гречиха – весьма ценная культура, в ее муке содержание полифенолов и токоферолов, а также антиоксидантная активность гораздо более высоки, по сравнению с пшеничной мукой (Zduńczyk et al., 2006; Inglett et al., 2011; Sedej et al., 2011). Согласно результатам выполненных измерений суммарного содержания антиоксидантов в зерне разных видов (соя, ячмень, овес, пшеница, кукуруза, просо и рис), этими химическими соединениями богаче всех оказалась соя (Яшин и др., 2012).

В литературе имеются данные, свидетельствующие о том, что зерно сорго и амаранта имеет высокий уровень антиоксидантной активности и может считаться перспективным для пищевого применения (Ragaee et al., 2006; Luthria, Liu, 2013; Chauhan et al., 2015). Следует выделить, что амарант при этом характеризуется повышенным содержанием общего пищевого волокна и у него отсутствует глютен.

В настоящее время особое внимание сосредоточено на извлечении антиоксидантных соединений (в основном полифенолов) из недорогих источников или отходов сельскохозяйственного производства, а также обобщении имеющихся данных о факторах, влияющих на их антиоксидантную активность и стабильность (Moure et al., 2001). При этом изучаются вопросы переработки зернового сырья с целью получения муки с улучшенной антиоксидантной активностью и более высоким суммарным содержанием фенольных соединений путем смешивания различных типов фракций (Aprodu, Banu, 2012). Анализируются эффекты проращивания, пропаривания и микроволновой обработки цельного зерна на его фенольный состав и антиоксидантную активность. Результаты выявили, что проростки пшеницы обладают значительной антиоксидантной емкостью (Бережная и др., 2015). Исследуется влияние физической структуры (степени измельчения) пшеничных отрубей на их антиоксидантные свойства. Показано, что уменьшение среднего размера частиц отрубей с 172 до 30 мкм сопровождается ростом их антиоксидантной способности в 1.5 раза (Rosa et al., 2013). Зерновые злаки – наиболее широко распространенные компоненты растительной пищи, поэтому понятен интерес к их антиоксидантному потенциалу (в частности, содержанию витамина Е) для обогащения пищевых продуктов.

Распределение антиоксидантов в зерновке

Химические соединения, обладающие антиоксидантной активностью, распределены в зерновке неравномерно. После разделения зерновок четырех сортов голозерного ячменя на пять частей (слоев) в них выполнены измерения общего содержания растворимых фенольных соединений и общей антиоксидантной активности. Установлено, что общее содержание растворимых фенольных соединений снижается от внешнего слоя (2.8–7.7 мкг/г) к внутренним структурам эндосперма (0.87–1.35 мкг/г) (Gong et al., 2012;

Ndolo et al., 2013). Доказано, что большинство антиоксидантов, входящих в состав цельного зерна, находится в отрубях и зародышевой части зерновки. Так, в муке, полученной из цельного зерна, в его зародышевой части и в отрубях обнаружено 83 % от общего содержания в зерне фенольных соединений, 79 % от общего содержания флавоноидов, 78 % от всего зеаксантина, 51 % от суммарного лютеина (Liu, 2007). В зерновках пяти образцов финских ячменей, выращенных в 2006–2008 гг., анализировали общее содержание фолиевой кислоты (Edelmann et al., 2012, 2013). Отмечено, что внешние и содержащие зародыш слои зерновки отличались наибольшим ее содержанием (до 1710 нг/г).

Сравнительный анализ антиоксидантной активности экстрактов, полученных из различных продуктов переработки зерна пшеницы (мука, отруби, хлебобулочные изделия, изготовленные с добавлением отрубей и без них), показал, что массовая доля антиоксидантов возрастала в ряду: мука, хлеб без добавления отрубей, смесь муки и отрубей (в пропорции для приготовления отрубного хлеба), отрубной хлеб, отруби. Сделан вывод о том, что добавление отрубей к муке и процесс технологической обработки увеличивают антиоксидантную активность продукции. При этом эксперимент параллельно проводился на зерне двух изогенных линий, одна из которых характеризовалась наличием антоцианов в перикарпе, однако вклад антоцианов в повышение антиоксидантной активности не отмечен (Хлесткина и др., 2017).

На примере ячменя, овса, пшеницы и кукурузы было продемонстрировано, что антиоксидантная активность каротиноидов, находящихся в алейроновом слое, составила 50 % от таковой для зародышевой части (Ndolo, Beta, 2013). На различных генотипах проса найдено, что содержание и распределение фенольных соединений в структурах зерновки неодинаково (Chandrasekara, Shahidi, 2011; Chandrasekara et al., 2012). Установлено, что фенольные соединения в зерновках ржи и гречихи также сосредоточены главным образом в наружных слоях зерновок (Bondia-Pons et al., 2009; Fu-hua et al., 2013). Продемонстрировано, что в зерновках риса содержание полифенолов максимально в отрубях, а минимально – в эндосперме, промежуточное значение антиоксидантов характерно для зародыша (Shao, Bao, 2015).

На двух пленчатых сортах ячменя выполнено последовательное шелушение зерна с удалением 5 % его массы в течение каждого из восьми циклов обработки. Оказалось, что общая антиоксидантная активность максимальна в 15–25 % массовой фракции зерна (Blandino et al., 2015). Сходные результаты показаны для трех сортов пшеницы (Sovrani et al., 2012). В других работах в ходе исследования отрубей и муки обнаружено, что фракция отрубей содержит значительно более высокие концентрации указанных антиоксидантов (Liyana-Pathirana, Shahidi, 2007; Žilić et al., 2012). Для изучения локализации фенольных кислот в зерновке сорго проводили его последовательное шелушение. Во всех фракциях выявлены четыре фенольные кислоты: кофейная, кумаровая, феруловая и синаповая. При этом наблюдалась значимая корреляция между общим количеством фенольных кислот и антиоксидантов во всех фракциях (Luthria, Liu, 2013). Аналогичные результаты

получены для зерновок овса при обследовании распределения фенолов и токолов, а также антиоксидантной активности. Общее содержание фенольных соединений в зерновках значимо коррелировало с их антиоксидантной активностью (Emmons et al., 1999).

Отруби, полученные из риса, пшеницы, овса, ячменя, сорго, проса, ржи и кукурузы, включали фенольные кислоты (феруловая кислота), флавоноиды (антоцианы), витамины (каротиноиды, токолы), фолаты и другие соединения (Guo, Beta, 2013; Patel, 2015).

В порядке убывания содержания антиоксидантов пшеничные отруби расположились следующим образом: порошкообразные пшеничные отруби, пшеничные отруби с солодовым вкусом, пшеничные отруби, таблетки из отрубей, таблетки из отрубей с целлюлозой (Martínez-Tomé et al., 2004).

Таким образом, зерновые отруби, побочные продукты переработки зерна, полученные из риса, пшеницы, овса, ячменя, сорго, проса и ржи, приобрели важное значение в качестве источника обогащения продуктов питания и при создании функциональных ингредиентов с высокой питательной ценностью и полезными свойствами для укрепления здоровья (Chinma et al., 2015; Das, Singh, 2015; Patel, 2015).

Зависимость содержания антиоксидантов в зерновках от генотипа и внешней среды

На содержание антиоксидантов в зерновке оказывают влияние генотип и условия выращивания растений. В зерновках пяти сортов овса (четыре пленчатых и один голозерный), выращенных в одинаковых условиях в течение одного года, измеряли уровни антиоксидантов и определяли их состав (стерины, токолы, авенантрамиды, фолаты, фенольные кислоты). Общая концентрация токолов, фенольных кислот и авенантрамидов различалась между сортами более чем в два раза. Это указывает на возможность успешного проведения отбора овса на повышенное содержание антиоксидантов в зерне (Shewry et al., 2008). В другой работе в результате изучения антиоксидантов ячменя были выделены сорта с высокими показателями, что позволило подтвердить реальные перспективы такой селекции и для данной зерновой культуры (Andersson et al., 2008). Анализ зерна разных образцов финских ячменей, выращенных в 2006–2008 гг., показал, что общее содержание фолиевой кислоты по сортам и годам существенно изменялось и колебалось от 563 до 773 нг/г (Edelmann et al., 2013; Do et al., 2015). Ряд исследований посвящен изучению генотипического разнообразия зерновых злаков, выращиваемых в специфических условиях высокогорья. Изучение антиоксидантных свойств зерновок показало заметное межсортовое различие в уровнях фенольных соединений и флавоноидов (Zhu et al., 2015; Shah et al., 2016). В результате исследования было найдено, что содержание фенольных соединений в наружных слоях зерна и их общая антиоксидантная активность у высокогорных сортов более чем в два раза превышали таковые показатели зерна равнинного голозерного ячменя (Gong et al., 2012).

В качестве важного признака зерновки в плане анализа антиоксидантной активности можно исследовать окраску наружных пленок. Определено, что сорт ячменя с зернов-

ками фиолетового цвета содержал 11 антоцианинов, в то время как в зерновках ячменя черной и желтой окраски наблюдался только один антоцианин. Для экстракта, полученного из отрубей ячменя, имеющего зерновки фиолетовой окраски, была характерна самая высокая общая антиоксидантная активность (Lee et al., 2013). В другой работе (Gong et al., 2012) на голозерном ячмене продемонстрировано наличие более высокой антиоксидантной активности у пигментированных форм по сравнению с неокрашенными. Проведенное изучение образцов голозерного и пленчатого овса показало, что у голозерных сортов значение антиоксидантной активности было достоверно больше. При этом среди пленчатых образцов показатели были выше у темнопленчатых форм овса по сравнению с белопленчатыми (Варгач и др., 2017). Найдено, что отруби риса с красной и фиолетовой окраской характеризовались более высоким содержанием фенольных соединений, концентрацией флавоноидов и антиоксидантной активностью, чем отруби, лишенные пигментов. Указанный факт явился следствием большей концентрации проантоцианидинов и антоцианов соответственно (Min et al., 2012). В работе (Cavallero et al., 2004) исследовали влияние генотипа и места выращивания на количество токолов в пленчатом и голозерном зерне ячменя. Установлено, что пленчатый ячмень характеризовался большим накоплением указанных биоактивных гомологов. Следовательно, для повышения качества пищевых продуктов по этому признаку следует останавливать выбор на пленчатом ячмене. Анализ влияния генотипа на биосинтез фенольных кислот в зерновках овса показал значительные различия в содержании феруловой и кумаровой кислот, а также в общем уровне фенольных соединений у разных образцов (Kovačova, Malinova, 2007; Alfieri, Redaelli, 2015).

Ряд авторов пришел к выводу о большем эффекте окружающей среды, а не генотипа на антиоксидантную активность зерна. У большинства сортов овса при выращивании на глинистой почве найдено повышенное содержание альфа-токотриенолов и значение антиоксидантной активности (Broeck et al., 2016). Исследование зависимости содержания авенантрамидов и антиоксидантной активности зерна овса от генотипа и окружающей среды показало наличие влияния всех этих факторов на общее содержание антиоксидантов и антиоксидантную активность. При этом эффект окружающей среды был значительно выше, чем роль генотипа и взаимодействия этих факторов (Li et al., 2017).

Внесение азотных удобрений в почву в течение двух лет при выращивании пшеницы однозернянки сопровождалось увеличением содержания белка и фенольных соединений в зерне. Аналогичный, но менее очевидный эффект проявился в концентрации токолов в зерне (Hidalgo, Brandolini, 2017). Исследование влияния повышенных концентраций углекислого газа на уровни антиоксидантов в зерне риса показало уменьшение содержания фенольных кислот и флавоноидов, а также снижение содержания всех изомеров витамина Е в эндосперме и цельном зерне. Кроме того, при увеличении концентрации углекислого газа в воздухе снижалась антиоксидантная способность зерна риса (Goufo et al., 2014). Для того чтобы оценить влияние генотипа, места произрастания и их взаимодей-

ствия на общее содержание фенольных соединений у зерновых культур, были изучены химические экстракты целого зерна твердой и мягкой пшеницы, овса, ячменя и тритикале. Полученные результаты выявили различия среди видов злаков в концентрации указанных веществ, при этом была подтверждена ключевая роль места выращивания (Menga et al., 2010).

Известно, что неблагоприятные для роста внешние условия могут увеличивать содержание антиоксидантов в растениях. Так, окислительный стресс, обусловленный накоплением активных форм кислорода, вызывает многочисленные реакции в растительных организмах, в том числе ответы антиоксидантных систем, которые, как правило, приводят к увеличению концентрации антиоксидантов в растениях (Wang, Frei, 2011). Другие авторы проследили влияние на содержание антиоксидантов как генотипа, так и условий внешней среды. В результате было найдено, что содержание фенольных кислот и общего количества фенольных соединений в зерновке в основном зависело от условий окружающей среды, тогда как содержание желтых пигментов и уровень общей антиоксидантной способности находились под влиянием главным образом генетических факторов (Martinia et al., 2015; Mosawy, 2015). Общая антиоксидантная способность зерна ячменя и овса обусловлена также внешними факторами (погодные условия, применение удобрений) и генотипом (Полонский и др., 2016a; Mareček et al., 2017).

Селекция зерновых культур на повышенное содержание антиоксидантов в зерновке

С целью сравнения потенциала примитивных видов пшеницы и мягкой яровой пшеницы в качестве донора полезных антиоксидантных свойств оценивали содержание основных липофильных антиоксидантов – каротиноидов и токолов в зерновке (Hejtmánková et al., 2010; Lachman et al., 2013). У однозернянки были обнаружены значительные эффекты генотипа на содержание каротиноидов и токолов, отличающиеся от таковых у полбы и мягкой пшеницы. Исследованием, выполненным в работе (Shewty, Hey, 2015), установлено, что самую высокую долю токотриенолов (74 %) среди разных видов пшеницы содержали примитивные виды пшеницы. По мнению авторов, заметный разброс в содержании токоферола и токотриенолов у исследованных генотипов пшеницы предполагает в будущих селекционных программах наличие большого потенциала для развития конкретных генотипов пшеницы с содействующими укреплению здоровья свойствами (Hussain et al., 2012). Однако, хотя примитивные пшеницы имеют более высокое содержание каротиноида лютеина, чем мягкая пшеница, анализ не подтверждает предположение о том, что древние пшеницы являются обычно более «здоровыми», чем современные пшеницы (Tucakovic et al., 2015).

В настоящее время в мире существует интерес к таким зерновым культурам, как сорго и просо, фенольные соединения которых имеют важные свойства, содействующие укреплению здоровья. Исследования показали, что зерно этих видов может использоваться в снижении окислительного стресса, профилактике сердечно-сосудистых болезней, обладает антидиабетическим, противовоспалитель-

тельным и антигипертензивным действием. Указанные задачи решаются с помощью традиционной селекции и технологии рекомбинантной ДНК (Taylor et al., 2014).

Генетический анализ содержания полифенолов и антиоксидантов позволил идентифицировать гены или локусы количественных признаков, которые отвечают за изменение концентрации полифенолов. Эта информация может быть полезной в работе по улучшению качества риса путем селекции. Идентификация полифенольных соединений и исследование их генетических основ у различных сортов риса обеспечивают фундамент нутрицевтических свойств целого зерна (Shao, Bao, 2015).

Сравнение почти изогенных линий ячменя, отличающихся по гену черной окраски цветковой чешуи и перикарпа (*B1p*), показало превышение антиоксидантной активности экстрактов зерна линии с черной окраской (Glagoleva et al., 2017). На основе анализа транскриптомов цветковой чешуи и перикарпа данных изогенных линий выявлены дифференциально экспрессирующиеся гены, среди которых наряду с генами, участвующими в формировании черной окраски, выделен и ген, предположительно влияющий на различия по антиоксидантной активности (Glagoleva et al., 2017). Этот ген кодирует О-метилтрансферазу кофейной кислоты, которая катализирует превращение кофейной кислоты в феруловую кислоту – мощный природный антиоксидант.

Повышение качества зерна ячменя и овса – важная задача селекции. Известные методы скрининга этих качеств зерна злаков требуют слишком много времени, относятся к сложным, разрушительным и малоприменимым для процесса размножения. Поэтому весьма актуальны исследования, заключающиеся в разработке косвенных методов оценки показателей качества зерна, которые являются неразрушающими, простыми и оперативными. С этой целью изучали физические и технологические параметры зерна различных сортов и линий ярового ячменя и овса. В результате были найдены коррелятивные связи и предложены простые подходы к косвенной оценке этих культур по качеству на содержание белка (Полонский, Герасимов, 2010), концентрацию бета-глюканов (Polonskiy et al., 2016), уровень пленчатости зерна (Полонский, Сумина, 2013), пивоваренные качества зерна (Полонский, Сумина, 2012). На основании проведенного анализа образцы ячменя и овса были разделены на две контрастные группы с минимальным и максимальным значениями указанных показателей. Эти группы могут рассматриваться в качестве перспективных форм для селекции в разных направлениях (Polonskiy, Sumina, 2015).

Для прогресса в селекции зерновых культур, обладающих повышенной антиоксидантной активностью, необходим скрининг перспективных сортов и гибридов зерновых культур по содержанию антиоксидантов в зерне. Целесообразно использовать также оперативные, простые, неповреждающие и, как правило, косвенные методы оценки генотипов на уровень антиоксидантов в зерне. В этом направлении сделан ряд успешных попыток, которые описаны в литературе. Так, на ячмене продемонстрирована положительная корреляция между массой 1 000 зерен и концентрацией в них токолов; содержанием пищевых волокон и уровнем фенольных соединений (Andersson

et al., 2008); показателем пленчатости зерна и суммарным уровнем в нем антиоксидантов (Полонский и др., 2016б).

Результаты изучения полученных сортов зерновых культур и успехи селекции в создании новых продуктивных и высококачественных сортов, богатых антиоксидантами, позволят использовать их для получения целого спектра функциональных продуктов, оказывающих благоприятное влияние на организм человека и способствующих укреплению его здоровья.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и Министерства образования Республики Хакасия (грант № 16-44-190763), а также в рамках государственного задания ВИР № 0662-2018-0017 AAAA-A16-116040710360-1.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Бережная О.В., Дубцов Г.Г., Войно Л.И. Проростки пшеницы – ингредиент для продуктов питания. Пищевая пром-сть. 2015;5: 26-29.
- Варгач Ю.И., Лоскутов И.Г., Мертвищева М.Е. Антиоксидантная активность зерновок овса в условиях ЦНЗ РФ. Материалы докладов Годичного собрания ОФР, научной конференции и школы для молодых ученых: «Экспериментальная биология растений: фундаментальные и прикладные аспекты». 18-24 сент. 2017; Крым, Судак; 124.
- Гинс М.С., Гинс В.К. К вопросу об антиоксидантном метаболизме овощных культур селекции ВНИИССОК. Овощи России. 2015; 2(27):75-79.
- ГОСТ Р 52349-2005. Продукты пищевые. Продукты пищевые функциональные. Термины и определения. М., 2005.
- Лоскутов И.Г. Овес (*Avena L.*). Распространение, систематика, эволюция и селекционная ценность. СПб: ГНЦ РФ ВИР, 2007.
- Лоскутов И.Г., Полонский В.И. Селекция на содержание β-глюканов в зерне овса как перспективное направление для получения продуктов здорового питания, сырья и фуража. С.-х. биология. 2017;52(4):646-657. DOI 10.15389/agrobiology.2017.4.646rus.
- Лоскутов И.Г., Шеленга Т.В., Конарев А.В., Шаварда А.Л., Блинова Е.В., Дзюбенко Н.И. Метаболический подход к сравнительному анализу диких и культурных видов овса (*Avena L.*). Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(5):636-642. DOI 10.18699/VJ16.185.
- Полонский В.И., Герасимов С.А. Способ оценки ячменя на содержание белка в зерне. Патент на изобретение. № 2394223. Оpubл. 10.07.2010.
- Полонский В.И., Сумина А.В. Способ оценки качества зерна генотипов ячменя пивоваренного направления. Патент на изобретение. № 2468568. Оpubл. 10.12.2012.
- Полонский В.И., Сумина А.В. Способ оценки пленчатости зерна генотипов ячменя. Патент на изобретение. № 2495563. Оpubл. 24.10.2013.
- Полонский В.И., Сумина А.В., Павлова Е.В., Шалдаева Т.М. Варьирование суммарного содержания антиоксидантов в зерне овса и ячменя, выращенного в условиях межгорных котловин. Усп. соврем. естествознания. 2016а;8:114-119.
- Полонский В.И., Сумина А.В., Шалдаева Т.М., Струпан Е.А. Оценка содержания антиоксидантов в зерне ячменя и овса на основе его физических показателей. Вестн. КрасГАУ. 2016б;8:59-64.
- Федина П.А., Яшин А.Я., Черноусова Н.И. Определение антиоксидантов в продуктах растительного происхождения амперометрическим методом. Химия растит. сырья. 2010;2:91-97.
- Хлесткина Е.К., Усенко Н.И., Гордеева Е.И., Стабровская О.И., Шарфунова И.Б., Отмахова Ю.С. Маркер-контролируемое по-

- лучение и производство форм пшеницы с повышенным уровнем биофлавоноидов: оценка продукции для обоснования значимости направления. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(5):545-553. DOI 10.18699/VJ17.25-o.
- Яшин А.Я. Инжекционно-проточная система с амперометрическим детектором для селективного определения антиоксидантов в пищевых продуктах и напитках. Рос. хим. журн. 2008; 52(2):130-135.
- Яшин А.Я., Яшин Я.Н., Федина П.А., Черноусова Н.И. Определение природных антиоксидантов в пищевых злаках и бобовых культурах. Аналитика. 2012;2(1):32-36.
- Adom K.K., Liu R.H. Antioxidant activity of grains. J. Agric. Food Chem. 2002;50(21):6182-6187.
- Alfieri M., Redaelli R. Oat phenolic content and total antioxidant capacity during grain development. J. Cereal Sci. 2015;65(9):39-42.
- Andersson A.A.M., Lampi A.M., Nyström L., Piironen V., Li L., Ward J.L., Gebruers K., Courtin C.M., Delcour J.A., Boros D., Fraš A., Dynkowska W., Rakszegi M., Bedő Z., Shewry P.R., Aman P. Phytochemical and dietary fiber components in barley varieties in the HEALTHGRAIN diversity screen. J. Agric. Food Chem. 2008;56(21):9767-9776.
- Aprodu I., Banu I. Antioxidant properties of wheat mill streams. J. Cereal Sci. 2012;56(2):189-195.
- Blandino M., Locatelli M., Sovrani V., Coisson J.D., Rolle L., Traviglia F., Giacosa S., Bordiga M., Scarpino V., Reyneri A., Arlorio M. Progressive pearling of barley kernel: Chemical characterization of pearling fractions and effect of their inclusion on the nutritional and technological properties of wheat bread. J. Agric. Food Chem. 2015; 63(25):5875-5884.
- Bondia-Pons I., Aura A.M., Vuorela S., Kolehmainen M., Mykkänen H., Poutanen K. Rye phenolics in nutrition and health. J. Cereal Sci. 2009;49(3):323-336.
- Branković G., Dragičević V., Dodig D., Zorić M., Knežević D., Žilić S., Denčić S., Šurlan G. Genotype × environment interaction for antioxidants and phytic acid contents in bread and durum wheat as influenced by climate. Chilean J. Agric. Res. 2015;75(2):139-146.
- Broeck H.C., Londono D.M., Timmer R., Smulders M.J.M., Gilissen L.J.W., Meer I.M. Profiling of nutritional and health-related compounds in oat varieties. Foods. 2016;5(2):2-11.
- Calado J.C.P., Albertão P.A., de Oliveira E.A., Letra M.H.S., Sawaya A.C.H., Marcucci M.C. Flavonoid contents and antioxidant activity in fruit, vegetables and other types of food. Agric. Sci. 2015; 6(2):426-435.
- Cavallero A., Gianinetti A., Finocchiaro F., Delogu G., Stanca A.M. Tocols in hull-less and hulled barley genotypes grown in contrasting environments. J. Cereal Sci. 2004;39(2):175-180.
- Chandrasekara A., Naczki M., Shahidi F. Effect of processing on the antioxidant activity of millet grains. Food Chem. 2012;133(1):1-9.
- Chandrasekara A., Shahidi F. Determination of antioxidant activity in free and hydrolyzed fractions of millet grains and characterization of their phenolic profiles by HPLC-DAD-ESI-MSn. J. Funct. Foods. 2011;3(3):144-158.
- Chauhan A., Saxena D.C., Singh S. Total dietary fibre and antioxidant activity of gluten free cookies made from raw and germinated amaranth (*Amaranthus* spp.) flour. LWT Food Sci. Technol. 2015; 63(2):939-945.
- Chinma C.E., Ramakrishnan Y., Ilowefah M., Hanis-Syazwani M., Muhammad K. Properties of cereal brans: A review. Cereal Chem. 2015;92(1):1-7.
- Das A.K., Singh V. Antioxidative free and bound phenolic constituents in pericarp, germ and endosperm of Indian dent (*Zea mays* var. *indentata*) and flint (*Zea mays* var. *indurata*) maize. J. Funct. Foods. 2015;13(2):363-374.
- Dias J.S. Nutritional quality and health benefits of vegetables: A review. Food Nutr. Sci. 2012;3(10):1354-1374.
- Do T.D.T., Cozzolino D., Muhlhauser B., Box A., Able A.J. Antioxidant capacity and vitamin E in barley: Effect of genotype and storage. Food Chem. 2015;187(15):65-74.
- Du B., Xu B. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) of β -glucans from different sources with various molecular weight. Bioact. Carbohydr. Diet. Fibre. 2014;3(1):11-16.
- Dykes L., Rooney L.W. Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. Cereal Foods World. 2007;32:105-111.
- Edelmann M., Kariluoto S., Nyström L., Piironen V. Folate in oats and its milling fractions. Food Chem. 2012;135(3):1938-1947.
- Edelmann M., Kariluoto S., Nyström L., Piironen V. Folate in barley grain and fractions. J. Cereal Sci. 2013;58(1):37-44.
- Emmons C.L., Peterson D.M., Paul G.L. Antioxidant capacity of oat (*Avena sativa* L.) extracts. 2. In vitro antioxidant activity and contents of phenolic and tocol antioxidants. J. Agric. Food Chem. 1999; 47(12):4894-4898.
- Fardet A. New hypotheses for the health-protective mechanisms of whole-grain cereals: what is beyond fibre? Nutr. Res. Rev. 2010;23: 65-134.
- Fardet A., Rock E., Rémésy C. Is the in vitro antioxidant potential of whole-grain cereals and cereal products well reflected in vivo? J. Cereal Sci. 2008;48(2):258-276.
- Finley J.W. Proposed criteria for assessing the efficacy of cancer reduction by plant foods enriched in carotenoids, glucosinolates, polyphenols and selenocompounds. Ann. Bot. 2005;95:1075-1096.
- Fu-hua L., Ya Y., Xiao-lan Y., Shu-ying T., Jian M. Phenolic profiles and antioxidant activity of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Möench and *Fagopyrum tartaricum* L. Gaerth) hulls, brans and flours. J. Integr. Agric. 2013;12(9):1684-1693.
- Gao C., Gao Z., Greenway F.L., Burton J.H., Johnson W.D., Keenan M.J., Enright F.M., Martin R.J., Chu Y.F., Zheng J. Oat consumption reduced intestinal fat deposition and improved health span in *Caenorhabditis elegans* model. Nutr. Res. 2015;35(6):834-843.
- Glagoleva A.Y., Shmakov N.V., Shoeva O.Y., Vasiliev G.V., Shatskaya N.V., Börner A., Afonnikov D.A., Khlestkina E.K. Metabolic pathways and genes identified by RNA-seq analysis of barley near-isogenic lines differing by allelic state of the *Black lemma and pericarp* (*Blp*) gene. BMC Plant Biol. 2017;7(Suppl. 1):182. DOI 10.1186/s12870-017-1124-1.
- Gong L.X., Jin C., Wu L.J., Wu X.Q., Zhang Y. Tibetan hull-less Barley (*Hordeum vulgare* L.) as a potential source of antioxidants. Cereal Chem. 2012;89(6):290-295.
- Goufo P., Pereira J., Figueiredo N., Oliveira M.B., Carranca C., Rosa E.A.S., Trindade H. Effect of elevated carbon dioxide (CO₂) on phenolic acids, flavonoids, tocopherols, tocotrienols, γ -oryzanol and antioxidant capacities of rice (*Oryza sativa* L.). J. Cereal Sci. 2014;59(1):15-24.
- Guo W., Beta T. Phenolic acid composition and antioxidant potential of insoluble and soluble dietary fibre extracts derived from select whole-grain cereals. Food Res. Int. 2013;51(2):518-525.
- Gupta C., Prakash D. Nutraceuticals for geriatrics. J. Tradit. Complement. Med. 2015;5:5-14.
- Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress. Biochem. Soc. Trans. 2007;35(5):1147-1150.
- Hejtmánková K., Lachman J., Hejtmánková A., Pivec V., Janovská D. Tocols of selected spring wheat (*Triticum aestivum* L.), einkorn wheat (*Triticum monococcum* L.) and wild emmer (*Triticum dicoccum* Schuebl. [Schränk]) varieties. Food Chem. 2010;123(4):1267-1274.
- Hidalgo A., Brandolini A. Nitrogen fertilisation effects on technological parameters and carotenoid, tocol and phenolic acid content of einkorn (*Triticum monococcum* L. subsp. *monococcum*): A two-year evaluation. J. Cereal Sci. 2017;73:18-24.
- Hosseini F.S., Mazza G. Triticale bran and straw: Potential new sources of phenolic acids, proanthocyanidins, and lignans. J. Funct. Foods. 2009;1(1):57-64.
- Hurtado-Fernández E., Gómez-Romero M., Carrasco-Pancorbo A., Fernández-Gutiérrez A. Application and potential of capillary electrophoresis methods to determine antioxidant phenolic compounds from plant food material. J. Pharm. Biomed. Anal. 2010;53(5): 1130-1160.

- Hussain A., Larsson H., Olsson M.E., Kuktaite R., Grausgruber H., Johansson E. Is organically produced wheat a source of tocopherols and tocotrienols for health food? *Food Chem.* 2012;132(4):1789-1795.
- Hüttner E.K., Arendt E.K. Recent advances in gluten-free baking and the current status of oats. *Trends Food Sci. Technol.* 2010;21(6):303-312.
- Inglett G.E., Chen D., Berhow M., Lee S. Antioxidant activity of commercial buckwheat flours and their free and bound phenolic compositions. *Food Chem.* 2011;125(3):923-929.
- Kovačova M., Malinova E. Ferulic and coumaric acids, total phenolic compounds and their correlation in selected oat genotypes. *Czech J. Food Sci.* 2007;25(6):325-332.
- Lachman J., Hejtmánková K., Kotíková Z. Tocols and carotenoids of einkorn, emmer and spring wheat varieties: Selection for breeding and production. *J. Cereal Sci.* 2013;57(2):207-214.
- Lee C., Han D., Kim B., Baek N., Baik B.K. Antioxidant and anti-hypertensive activity of anthocyanin-rich extracts from hullless pigmented barley cultivars. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2013;48(5):984-991.
- Leonova S., Gnutikov A., Loskutov I., Blinova E., Gustafsson K.-E., Olsson O. Avenanthramide content exhibits large variability in wild and cultivated oats. *J. Agric. Food Chem.* 2018. (In press).
- Li W., Friel J., Beta T. An evaluation of the antioxidant properties and aroma quality of infant cereals. *Food Chem.* 2010;121(4):1095-1102.
- Li X.P., Li M.Y., Ling A.J., Hu X.Z., Ma Z., Liu L., Li Y.X. Effects of genotype and environment on avenanthramides and antioxidant activity of oats grown in northwestern China. *J. Cereal Sci.* 2017;73:130-137.
- Liu R.H. Whole grain phytochemicals and health. *J. Cereal Sci.* 2007;46(3):207-219.
- Liu Y. Beta-glucan effects on pasting properties and potential health benefits of flours from different oat lines. Graduate Theses and Dissertations. Paper 11303. Ames, Iowa: Iowa State University, 2010.
- Liyana-Pathirana C.M., Shahidi F. The antioxidant potential of milling fractions from breadwheat and durum. *J. Cereal Sci.* 2007;45(3):238-247.
- Lopez-Martinez L.X., Oliart-Ros R.M., Valerio-Alfaro G., Lee C.H., Parkin K.L., Garcia H.S. Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT Food Sci. Technol.* 2009;42(6):1187-1192.
- Loskutov I.G., Rines H.W. *Avena L.* Ed. C. Kole. *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources. Cereals.* Heidelberg, Berlin, New York: Springer-Verlag, 2011;1:109-184. DOI 10.1007/978-3-642-14228-4_1.
- Luthria D.L., Liu K. Localization of phenolic acids and antioxidant activity in sorghum kernels. *J. Funct. Foods.* 2013;5(4):1751-1760.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Jimenez L. Polyphenols: Food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004;79(4):727-747.
- Mareček V., Míkyška A., Hampel D., Čejka P., Neuwirthová J., Malachová A., Cerkal R. ABTS and DPPH methods as a tool for studying antioxidant capacity of spring barley and malt. *J. Cereal Sci.* 2017;73(1):40-45.
- Martínez-Tomé M., Murcia M.A., Frega N., Ruggieri S., Jiménez A.M., Roses F., Parras P. Evaluation of antioxidant capacity of cereal brans. *J. Agric. Food Chem.* 2004;52(15):4690-4699.
- Martinia D., Taddei F., Ciccoritti R., Pasquini M., Nicoletti I., Corradini D., D'Egidio M.G. Variation of total antioxidant activity and of phenolic acid, total phenolics and yellow coloured pigments in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) as a function of genotype, crop year and growing area. *J. Cereal Sci.* 2015;65:175-185.
- Masisi K., Beta T., Moghadasian M.H. Antioxidant properties of diverse cereal grains: A review on in vitro and in vivo studies. *Food Chem.* 2016;196:90-97.
- Menga V., Fares C., Troccoli A., Cattivelli L., Baiano A. Effects of genotype, location and baking on the phenolic content and some antioxidant properties of cereal species. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2010;45(1):7-16.
- Min B., Gu L., McClung A.M., Bergman C.J., Chen M.H. Free and bound total phenolic concentrations, antioxidant capacities, and profiles of proanthocyanidins and anthocyanins in whole grain rice (*Oryza sativa* L.) of different bran colours. *Food Chem.* 2012;133(3):715-722.
- Mosawy S. Effect of the flavonol quercetin on human platelet function: A review. *Food Public Health.* 2015;5(1):1-9.
- Moure A., Cruz J.M., Franco D., Domínguez J.M., Sineiro J., Domínguez H., Núñez M.J., Parajó J.C. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem.* 2001;72(2):145-171.
- Ndolo V.U., Beta T. Distribution of carotenoids in endosperm, germ, and aleurone fractions of cereal grain kernels. *Food Chem.* 2013;139(1-4):663-671.
- Ndolo V.U., Beta T., Fulcher R.G. Ferulic acid fluorescence intensity profiles and concentration measured by HPLC in pigmented and non-pigmented cereals. *Food Res. Int.* 2013;52(1):109-118.
- Patel S. Cereal bran fortified-functional foods for obesity and diabetes management: Triumphs, hurdles and possibilities. *J. Funct. Foods.* 2015;14:255-269.
- Peh H.Y., Tan W.S.D., Liao W., Wong W.S.F. Vitamin E therapy beyond cancer: Tocopherol versus tocotrienol. *Pharmacol. Ther.* 2016;162(1):152-169.
- Polonskiy V.I., Loskutov I.G., Sumina A.V. The Express method of oats genotypes evaluation on beta-glucan content. The 10th International Oat Conference: Innovation for Food and Health. (Abstracts of oral and poster presentation. "OATS 2016" N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR). St-Petersburg, 2016;78.
- Polonskiy V.I., Sumina A.V. Nondestructive methods for evaluating quality of grain in barley and oat genotypes. *Proc. 32nd Nordic Cereal Congress.* Espoo, Finland. 2015;54.
- Pradeep P.M., Sreerama Y.N. Impact of processing on the phenolic profiles of small millets: Evaluation of their antioxidant and enzyme inhibitory properties associated with hyperglycemia. *Food Chem.* 2015;169(2):455-463.
- Premakumara G.A.S., Abeysekera W.K.S.M., Ratnasooriya W.D., Chandrasekharan N.V., Bentota A.P. Antioxidant, anti-amylase and anti-glycation potential of brans of some Sri Lankan traditional and improved rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *J. Cereal Sci.* 2013;58(3):451-456.
- Ragaei S., Abdel-Aal E.S.M., Noaman M. Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use. *Food Chem.* 2006;98(1):32-38.
- Rosa N.N., Barron C., Gaiani C., Dufour C., Micard V. Ultra-fine grinding increases the antioxidant capacity of wheat bran. *J. Cereal Sci.* 2013;5784-5790.
- Sedej I., Sakač M., Mandić A., Mišan A., Tumbas V., Hadnadev M. Assessment of antioxidant activity and rheological properties of wheat and buckwheat milling fractions. *J. Cereal Sci.* 2011;54(3):347-353.
- Sen C.K., Khanna S., Roy S. Tocotrienols in health and disease: The other half of the natural vitamin E family. *Mol. Aspects Med.* 2007;28(5-6):692-728.
- Shah A., Masoodi F.A., Gani A., Ashwar B.A. Newly released oat varieties of himalayan region – Techno-functional, rheological, and nutraceutical properties of flour. *LWT – Food Sci. Technol.* 2016;70(7):111-118. DOI 10.1016/j.lwt.2016.02.033.
- Shahidi F., Ambigaipalan P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *J. Funct. Foods.* 2015;18:820-897.
- Shahidi F., Chandrasekara A. Millet grain phenolics and their role in disease risk reduction and health promotion: A review. *J. Funct. Foods.* 2013;5(2):570-581. DOI 10.1016/j.jff.2013.02.004.
- Shao Y., Bao J. Polyphenols in whole rice grain: Genetic diversity and health benefits. *Food Chem.* 2015;180(8):86-97.
- Shebis Y., Iluz D., Kinel-Tahan Y., Dubinsky Z., Yehoshua Y. Natural antioxidants: function and sources. *Food Nutr. Sci.* 2013;4:643-649.
- Shewry P.R., Hey S. Do "ancient" wheat species differ from modern bread wheat in their contents of bioactive components? *J. Cereal Sci.* 2015;65:236-243. DOI 10.1016/j.jcs.2015.07.014.

- Shewry P.R., Piironen V., Lampi A.M., Nyström L., Li L., Rakszegi M., Fraš A., Boros D., Gebruers K., Courtin C.M., Delcour J.A., Andersson A.A.M., Dimberg L., Bedő Z., Ward J.L. Phytochemical and fiber components in oat varieties in the HEALTHGRAIN diversity screen. *J. Agric. Food Chem.* 2008;56(21):9777-9784.
- Sontag-Strohm T., Lehtinen P., Kaukovirta-Norja A. Oat products and their current status in the celiac diet. Eds. E.K. Arendt, F. Dal Bello. *Gluten-Free Cereal Products and Beverages*. Burlington, MA.: Academic Press, 2008;191-202.
- Sovrani V., Blandino M., Scarpino V., Reyneri A., Consson J.D., Travaglia F., Locatelli M., Bordiga M., Montella R., Arlorio M. Bioactive compound content, antioxidant activity, deoxynivalenol and heavy metal contamination of pearled wheat fractions. *Food Chem.* 2012; 135:39-46.
- SucHECKA D., Harasym J.P., Wilczak J., Gajewska M., Oczkowski M., Gudej S., Błaszczak K., Kamola D., Filip R., Gromadzka-Ostrowska J. Antioxidative and anti-inflammatory effects of high beta-glucan concentration purified aqueous extract from oat in experimental model of LPS-induced chronic enteritis. *J. Funct. Foods.* 2015; 14(4):244-254.
- Taylor J.R.N., Belton P.S., Beta T., Duodu K.G. Increasing the utilisation of sorghum, millets and pseudocereals: Developments in the science of their phenolic phytochemicals, biofortification and protein functionality. *J. Cereal Sci.* 2014;59(3):257-275.
- Tucakovic L., Colson N., Singh I. Relationship between common dietary polyphenols and obesity-induced inflammation. *Food Public Health.* 2015;5(3):84-91. DOI 10.5923/j.fph.20150503.04.
- Tufan A.N., Çelik S.E., Özyürek M., Güçlü K., Apak R. Direct measurement of total antioxidant capacity of cereals: QUENCHER-CUPRAC method. *Talanta.* 2013;108(4):136-142. DOI 10.1016/j.talanta.2013.02.061.
- Wang Y., Frei M. Stressed food – The impact of abiotic environmental stresses on crop quality. *Agric. Ecosyst. Environ.* 2011;141:271-286. DOI 10.1016/j.agee.2011.03.017.
- Yoshida A., Sonoda K., Nogata Y., Nagamine T., Sato M., Oki T., Hashimoto S., Ohta H. Determination of free and bound phenolic acids, and evaluation of antioxidant activities and total polyphenolic contents in selected pearled barley. *Food Sci. Technol. Res.* 2010; 16(3):215-224.
- Zduńczyk Z., Flis M., Zieliński H., Wróblewska M., Antoszkiewicz Z., Juśkiewicz J. *In vitro* antioxidant activities of barley, husked oat, naked oat, triticale, and buckwheat wastes and their influence on the growth and biomarkers of antioxidant status in rats. *J. Agric. Food Chem.* 2006;54(12):4168-4175.
- Zhao Z., Moghadasian M.H. Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: A review. *Food Chem.* 2008;109(4):691-702.
- Zhu Y., Li T., Fu X., Abbasi A.M., Zheng B., Liu R.H. Phenolics content, antioxidant and antiproliferative activities of dehulled highland barley (*Hordeum vulgare* L.). *J. Funct. Foods.* 2015;19:439-450.
- Zieliński H., Ceglińska A., Michalska A. Antioxidant contents and properties as quality indices of rye cultivars. *Food Chem.* 2007; 104(3):980-988.
- Zieliński H., Kozłowska H. Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. *J. Agric. Food Chem.* 2000;48(6):2008-2016.
- Žilić S., Šukalović V.H.T., Dodig D., Maksimović V., Maksimović M., Basić Z. Antioxidant activity of small grain cereals caused by phenolics and lipid soluble antioxidants. *J. Cereal Sci.* 2011;54(3):417-424.
- Žilić S., Serpen A., Akıllıoğlu G., Janković M., Gökmen V. Distributions of phenolic compounds, yellow pigments and oxidative enzymes in wheat grains and their relation to antioxidant capacity of bran and debranned flour. *J. Cereal Sci.* 2012;56(3):652-658.



Биохимический состав и технологическая оценка зерна интрогрессивных форм озимой мягкой пшеницы с участием различных видов *Triticum* и *Aegilops*

А.И. Аbugалиева✉, Т.В. Савин

Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства, Алматы, Казахстан

Для создания стрессоустойчивых, продуктивных и качественных сортов пшеницы нередко используется генетическое разнообразие диких и культурных сородичей – различных видов, относящихся к родам *Triticum* и *Aegilops*. Ранее с участием образцов *Triticum militinae*, *T. timopheevii*, *T. kiharae*, *Aegilops cylindrical* и *Ae. triaristata* были созданы и отобраны по устойчивости и урожайности интрогрессивные формы озимой мягкой пшеницы. Целью настоящей работы стала оценка биохимического состава и технологических свойств зерна данных форм. Анализ муки по содержанию клейковины методом ИСО выявил уровень изменчивости от 28.5 % для формы Эритроспермум 350 × *T. militinae* до 39.6 % для генотипа Жетысу × *T. militinae*. При этом качество клейковины первой группы (класс «сильная») выявлено только для генотипов Эритроспермум 350 × *T. militinae* и (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*. По физическим свойствам муки и теста интрогрессивные формы варьируют по разжижению теста от 80 до 170 е. ф., т.е. на уровне «филлера» и «слабой» пшеницы, с лучшим значением как по разжижению, так и по валориметрической оценке для генотипов Безостая 1 × *Ae. triaristata* и Эритроспермум 350 × *T. militinae* (80 ед. разжижения, 49 ед. фаринографа и 80–45 е. ф. соответственно). Хлебопекарная оценка показывает, что из муки зерна интрогрессивных форм выпекается хлеб объемом, сопоставимым с сортами, в том числе выше сортов-стандартов Алматы (720–760 мл) и Карахан (800 мл) по внешнему виду, пористости хлеба и общей хлебопекарной оценке. По твердозерности дикие сородичи и интрогрессивные формы характеризовались в основном как средние и твердозерные (52–93 ед. SKCS). Таким образом, по технологической оценке хлебопекарного типа изученные интрогрессивные формы относятся в основном к классам «ценная» и «филлер», по силе муки и объему хлеба – к классу «слабая», при прогнозе по составу ВМС глютеина и наличию транслокации 1B/1R – к классу «сильная».

Ключевые слова: *Triticum militinae*; *Triticum timopheevii*; *Triticum kiharae*; *Aegilops cylindrical*; *Aegilops triaristata*; дикие сородичи; интрогрессивные формы; качество зерна; качество муки; качество хлеба; озимая мягкая пшеница; содержание белка; содержание клейковины; субъединицы глютеина.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Аbugалиева А.И., Савин Т.В. Биохимический состав и технологическая оценка зерна интрогрессивных форм озимой мягкой пшеницы с участием различных видов *Triticum* и *Aegilops*. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(3):353–362. DOI 10.18699/VJ18.371

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Abugaliyeva A.I., Savin T.V. The wheat introgressive form evaluation by grain biochemical and technological properties. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(3):353–362. DOI 10.18699/VJ18.371 (in Russian)

УДК 633.111.1:664.641.12

Поступила в редакцию 09.06.2017

Принята к публикации 31.01.2018

© АВТОРЫ, 2018

✉ e-mail: kiz_abugaliyeva@mail.ru

The wheat introgressive form evaluation by grain biochemical and technological properties

A.I. Abugaliyeva✉, T.V. Savin

Kazakh Research Institute of Agriculture and Plant Growing, Almaty, Kazakhstan

To create stress-resistant, productive and quality wheat varieties, the genetic diversity of wild and cultured relatives is often used – various species belonging to the genera *Triticum* and *Aegilops*. Previously, with *Triticum militinae*, *T. timopheevii*, *T. kiharae*, *Aegilops cylindrical* and *Ae. triaristata* samples participation, introgressive winter common wheat forms were created and selected for stability and yield. The purpose of this work was to evaluate the biochemical composition and technological grains properties of these forms. Analysis of gluten content in flour by the ISO method revealed a variability level from 28.5 % for the form Erythrosperrum 350 × *T. militinae* to up to 39.6 % for the Zhetysu × *T. militinae* genotype. In this case, the 1st groups gluten quality (class “strong”) was found only for the genotypes Erythrosperrum 350 × *T. militinae* (Bezostaya 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*. According to the physical properties of flour and dough, the introgressive forms vary in the test dilution from 80 to 170 FU at the level of “filler” and “weak” bread wheat with the best value for both liquefaction and valorimetric evaluation for the genotypes Bezostaya 1 × *Ae. triaristata* and Erythrosperrum 350 × *T. militinae* (80 liquefaction units 49 FU and 80–45 FU, respectively). Bread making evaluation for the introgressive forms was comparable with winter wheat varieties including the Almaty standards (720–760 ml) and Karakhan (800 ml), at the bread quality and the baking evaluation. As for hardness, wild relatives and introgressive forms were characterized mainly as medium and hard (52–93 SKCS units). Thus, the introgressive forms studied were mainly related to the “valuable” and “filler” classes according to the technological bakery type evaluation, to the “weak” class according to the flour strength and bread volume, and to the “strong” class at the glutenin HMW composition forecast and the translocation of 1B/1R.

Key words: *Triticum militinae*; *Triticum timopheevii*; *Triticum kiharae*; *Aegilops cylindrical*; *Aegilops triaristata*; wild relatives; introgressive forms; grain quality; flour quality; quality of bread; winter common wheat; protein content; gluten content; glutenin subunits.

Для расширения возможностей селекции и создания стрессоустойчивых, продуктивных и качественных сортов важное значение имеет использование генофонда диких сородичей. Известно, что геном D положительно влияет на характеристики, связанные с продуктивностью и качеством зерна хлебопекарного типа. Улучшение D-генома пшеницы путем получения синтетических гексаплоидов и прямой гибридизации с донором D-генома (*Aegilops tauschii*) с оценкой преимуществ и недостатков использования каждого метода рассмотрено в работе (Cox et al., 2017). Создание синтетических гексаплоидов позволило достигнуть улучшения по таким показателям качества, как прорастание на корню (Lan, Yen, 1992; Imtiaz et al., 2008), наличие новых высокомолекулярных субъединиц (ВМС) глютеина (Lagudah et al., 1987; Mackie et al., 1996; Hsam et al., 2001; Tang et al., 2008), качество помола и хлебопекарное качество (Kunert et al., 2007; Tang et al., 2008). Результаты прямой гибридизации дали положительный эффект по смесительной ценности (Cox et al., 1995a, b; 1997), наличию новых компонентов глиадина и ВМС глютеина и объему хлеба (Brown-Guedira et al., 2005).

Оба подхода оказали значительное влияние на улучшение генофонда пшеницы. Синтетические гексаплоиды используются как ценные генетические ресурсы в селекционных программах международных центров CIMMYT, ИКАРДА и национальных программах в Австралии, Франции, Японии, Мексике, Нидерландах, Великобритании, США, а также в Китае (Li et al., 2014; Cox et al., 2017), где получен ряд высокоурожайных сортов из синтетических линий, начиная с весьма успешного сорта Chuanmai 42.

Известно, что интрогрессивные линии пшеницы, полученные от прямого скрещивания *Triticum aestivum* с *Aegilops tauschii*, широко применялись в качестве родительских форм селекционерами озимой пшеницы в США и в других странах. Девятнадцать сортов селекции США, созданные с 1999 по 2011 г. для возделывания в южном регионе страны, характеризовались наличием *Ae. tauschii* в их родословных (Gill et al., 2006).

К главному преимуществу метода прямой гибридизации можно отнести быстрое введение генетического материала *Ae. tauschii* в геном D, сопровождающееся полным сохранением аллельного состава локусов в A- и B-геномах используемого в скрещиваниях сорта *T. aestivum*. У полученных интрогрессивных форм локусы в геномах A и B, определяющие важные характеристики, такие как яровизация и реакция фотопериода, способность к прорастанию, а также количественные признаки, связанные с продуктивностью, толерантностью и качеством зерна, остаются такими же, как у родительского сорта, в то время как в геном D привносятся новые полезные аллели. Тем не менее ряд авторов утверждают, что прямая гибридизация для улучшения пшеницы не получила должного внимания (Ogbonnaya et al., 2013).

В настоящее время, с внедрением новых технологий актуальными становятся целенаправленный поиск и перенос конкретных генов. При удачном решении проблем продуктивности и устойчивости определяющим для использования зерна является вопрос его качества. Сведения по генетике признаков качества зерна представлены в обзорах

(Хлесткина и др., 2016; Alvarez, Guzman, 2018), где справедливо отмечено, что путем маркер-контролируемого введения полезных генов от диких видов в культурные формы растений можно эффективно создавать исходный материал для селекции по качеству зерна.

Наиболее развиты работы интрогрессивной селекции по получению и характеристике технологических свойств пшенично-эгилопсных форм (Щукина и др., 2012) на основе анализа содержания белка и качества зерна. В качестве донора гена *Gpc-B1*, влияющего на накопление белка, цинка и железа в зерне (локализованного в хромосоме 6BS, клонированного и детально изученного), используется также вид *T. dicoccoides* (Uauy et al., 2006), у которого впервые был идентифицирован функциональный вариант гена. С помощью молекулярных маркеров функциональный аллель этого гена был затем обнаружен и у некоторых местных и старых селекционных сортов: *T. dicoccum*, *T. durum*, *T. spelta* и *T. aestivum*. Гены, родственные *Gpc-B1* *T. dicoccoides*, найдены в G-геноме *T. timopheevii* и B(=S)-геноме различных видов *Aegilops* секции *Sitopsis*. Благодаря разработке молекулярных маркеров, выявляющих функционально активные и/или неактивные аллели *Gpc-B1*, стал возможен генетический скрининг образцов коллекций и ускоренный отбор из гибридных популяций генотипов с определенным составом аллелей (Vishwakarma et al., 2014; Mishra et al., 2015). О возможности передачи генов высокого содержания белка не только от *T. dicoccum*, но и от других образцов дикой двузернянки сообщалось в работах (Klindworth et al., 2009; Aykut Tonk et al., 2010; Hussein et al., 2014). Интрогрессия функциональных аллелей *Gpc-B1* – ценный ресурс для улучшения содержания белка в зерне (Tabbata et al., 2013). По мнению Н.А. Eagles с коллегами (2014), введение функциональных аллелей *Gpc-B1* в новые сорта может служить механизмом для частичного ослабления существующей отрицательной корреляции между урожайностью и содержанием белка.

С этой точки зрения представляют ценность интрогрессивные формы из межвидовых и межродовых гибридов с планомерным отбором пшеничного типа до F₆–F₈ поколения, постоянным цитологическим контролем в ранних поколениях 42-хромосомных форм (Кожухметов, Абуғалиева, 2017; Кожухметов и др., 2017а, б), отличающиеся устойчивостью к болезням (Абуғалиева et al., 2017) и продуктивностью на уровне 8–9 т/га.

Для использования этого материала в практических целях необходима характеристика биохимического состава зерна на фоне продуктивности. Детальное фенотипирование материала по качеству зерна перспективно для дальнейшего генетического анализа интрогрессивных форм с участием различных видов. К тому же переходные формы служат наиболее оптимальным материалом для оценки и последующего переноса уникальных для пшеницы генов аллелей от ее дикорастущих сородичей. Поддерживать и сохранять в норме выявленный ген (аллель) пшенично-чужеродных гибридов (ПЧГ) намного проще, чем отслеживать его в популяциях диких сородичей.

Целью настоящей работы было изучить биохимический состав и дать технологическую оценку зерна интрогрессивных форм пшеницы относительно диких сородичей и

коммерческих сортов с выделением источников и перспективных генотипов для использования в селекции.

Материалы и методы

В работе использовался следующий растительный материал: генотипы тетраплоидных (*T. dicoccum*, *T. militinae*, *T. timopheevii*, *T. dicoccoides*) и гексаплоидных (*T. kiharae*, *T. aestivum*) видов пшениц и эгилопсов (*Ae. triuncialis*, *Ae. triaristata*), а также константные переходные формы из межродовых и межвидовых скрещиваний (интрогрессивные) F₆–F₈ (Kozhakhmetov, Abugaliev, 2014). Материал выращен в 2006–2009 и 2014–2016 гг. в условиях стационара зернофуражных культур КазНИИ земледелия и растениеводства (КИЗ), 42° с. ш., 77° в. д., 740 м над ур. моря. Образцы посеяны на делянках площадью 5 м² в двух полевых повторениях в соответствии с принятой агротехникой для озимой пшеницы, согласно общей схеме эксперимента (Савин и др., 2018).

Содержание белка в зерне и его фракций определяли методом Кьельдаля (ГОСТ 10846-91) и БИК-спектроскопией по разработанным калибровочным уравнениям (Перуанский и др., 1996). Содержание крахмала устанавливали поляриметрическим методом, амилозы – йодометрическим титрованием по Juliano с модификациями (Перуанский и др., 1996). Показатель седиментации муки находили методом Зелени (в молочной кислоте) и в 2%-й уксусной кислоте (Синицын, Зелова, 1978), физико-химические и реологические свойства муки и теста – на приборах альвеограф и фаринограф. Общую хлебопекарную оценку, анализ содержания и качества клейковины проводили методами соответствующих ГОСТ и ИСО (Приложение 1)¹. Экстракцию и электрофорез глютеина осуществляли, как описано ранее (Abugaliev, Peña-Bautista, 2010).

Кластерный анализ проведен по алгоритму С.П. Мартынова с использованием минимума произведения между евклидовыми расстояниями и коэффициентом корреляции $D(1-R)^2$, описанному ранее (Савин и др., 1998).

Результаты и обсуждение

Биохимический состав

Интрогрессивные формы озимой пшеницы проанализированы по содержанию белка (N × 5.7). Максимальное содержание протеина отмечено для форм с участием *Ae. cylindrica*, *T. kiharae*, *T. militinae* и *T. timopheevii* при общем повышенном фоне для интрогрессивных форм по средним значениям (15.4–17.3 %) относительно современных коммерческих сортов (14.0–16.4 %). Содержание белка (N × 5.7) в зерне переходных озимых форм варьировало в условиях КИЗ от 13.9 % (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae* до 21.4 % для формы Безостая 1 × *Ae. cylindrica*, т.е. было на уровне класса хороших (>14 %) и отличных (>16 %) улучшителей на фоне урожайности от 9.6 до 28.8 ц/га. Содержание белка на уровне класса отличных улучшителей (>16 %) характерно для большинства (70–100 % от всех исследованных) интрогрессивных форм от скрещиваний: Жетысу × *T. kiharae* (100 %); Жетысу × *T. militinae* (92 %); Жетысу ×

T. timopheevii (83 %); Стекловидная 24 × *T. timopheevii* (75 %); Эритроспермум 350 × *T. kiharae*, Стекловидная 24 × *Ae. cylindrica*, Безостая 1 × *Ae. cylindrica*, (Безостая 1 × *Ae. triaristata*) × Карлыгаш (90 %). Только три формы (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-6, (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-4 и (Безостая 1 × *Ae. cylindrica*) × *T. kiharae* формировали в 10 % случаев содержание протеина ниже класса «ценная», а для современных сортов – в более чем 50 % образцов (Жетысу, Стекловидная 24 и Алмалы).

Анализ фракционного состава белка проведен по классическим осборновским фракциям: глобулин (солеорастворимая), глиадин (спирторастворимая), глютеин (щелочерастворимая) и нерастворимый остаток относительно сорта-стандарта Алмалы и диких сородичей (Приложение 2). Содержание глютеина относительно суммарного белка у интрогрессивных форм варьировало от 26.3 % для генотипа Стекловидная 24 × *Ae. cylindrica* до 34.4–32.9 % для генотипов Эритроспермум × *T. kiharae* и Жетысу × *T. militinae*, тогда как у диких сородичей этот показатель менялся от 14.3 % для *T. kiharae* до 20.1 % для *T. timopheevii* и 35.7 % для сорта-стандарта Алмалы. Два генотипа характеризовались равным содержанием глютеина и глобулина или преобладанием глобулиновой фракции: Эритроспермум 350 × *T. militinae*-1 (29 и 28 %) и Стекловидная 24 × *Ae. cylindrica* (28 и 26 %). Максимальное содержание глобулина отмечено у трех генотипов: Эритроспермум 350 × *T. militinae*, (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-6, Стекловидная 24 × *Ae. cylindrica*, что объясняется участием в их происхождении гермоплазмы *T. militinae* с содержанием глобулина в этой же репродукции до 35.7 %.

По интрогрессивным формам в урожай 2014 г. содержание глиадина по отношению к суммарному белку варьировало от 22.8–23.1 % для генотипов Эритроспермум 350 × *T. militinae*, (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-9, Эритроспермум 350 × *T. kiharae* до 28.3 % для генотипа Жетысу × *T. timopheevii*. При этом диапазон изменчивости для современных сортов (родительских форм) составлял от 29.9 % (Стекловидная 24) до 34.3 % (Безостая 1), а для диких сородичей – от 15.2 % (*T. kiharae*) до 33.7 % (*T. timopheevii*). Содержание глиадина в зависимости от генотипа варьировало в значительных пределах. Максимальные значения (в двух репродукциях) характерны для генотипов (Безостая 1 × *Ae. cylindrica*) × *T. kiharae*, Жетысу × *T. kiharae*, Жетысу × *T. militinae*, Безостая 1 × *Ae. cylindrica* и Жетысу × *T. timopheevii*. Соотношение глиадин/глютеин для интрогрессивных форм равнялось 0.7–1.0, как для пшеничного типа; для видов сородичей, напротив, отмечено преобладание глиадина (1.1–1.7).

Изменчивость содержания белка и белковых фракций – альбуминов + глобулинов, глиадинов и глютеинов – оценивалась по влиянию двух разных мест выращивания на количественный состав белка для *T. emmer* и *T. aestivum*. Результаты исследований (Eggert et al., 2010) показали, что инфекция *Fusarium* изменила содержание глиадинов и глютеинов в зерне эммера и пшеницы. Обнаружено, что фракции и типы пшеничных глютеинов сильнее подвержены влиянию *Fusarium* spp., чем фракции глю-

¹ Приложения 1–6 см. по адресу:
<http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/pict-2018-22/appx6.pdf>

тенина. Внесение азота в двух регионах было связано с увеличением содержания глиадина в *T. emmer* и увеличением содержания глютеина в *T. emmer* и пшенице. Доступность азота (фактор, способствующий экспрессии генов) привела здесь к видоспецифическому влиянию на соотношение глиадин/глютеин (Eggert et al., 2010).

Таким образом, содержание глиадина и глютеина и их соотношение информативны для прогноза качества, а степень изменчивости их количества и компонентов может быть эффективна в оценке стрессоустойчивости и видоспецифичности (Перуанский и др., 1999; Eggert et al., 2010).

Для технологических целей важна сумма глиадина и глютеина – основных белков клейковинного комплекса. Сумма клейковинных белков в зерне интрогрессивных форм озимой пшеницы составляет ряд от 52.1–52.9 % для генотипов Эритроспермум 350 $\times$ *T. militinae* и (Безостая 1 $\times$ *T. militinae*) $\times$ *T. militinae*-9 до 59.2–59.4 % для генотипов Жетысу $\times$ *T. timopheevii* и Жетысу $\times$ *T. militinae* на фоне 60.9 % для сорта-стандарта Алмалы. Такого количества белков достаточно для формирования клейковины. Соотношение глиадин/глютеин меняется от 0.7 до 1.0, что позволяет прогнозировать хорошее качество клейковины, в сравнении с дикими формами, у которых преобладает глиадин.

Содержание крахмала в зерне интрогрессивных форм варьировало от 52.9 % для Жетысу $\times$ *T. militinae* до 61.3 % для (Безостая 1 $\times$ *T. militinae*) $\times$ *T. militinae*-6, т.е. было на уровне сортов, но выше, чем в зерне диких сородичей (*T. kiharae* – 50.6–53.3 %; *T. militinae* – 50.0–50.2 %; *Ae. triaristata* – 52.2 %).

Содержание амилозы в зерне варьировало от 17.3 % для генотипа (Безостая 1 $\times$ *Ae. triaristata*) $\times$ Карлыгаш до 38.0 % для генотипов Эритроспермум 350 $\times$ *T. kiharae* и Жетысу $\times$ *T. militinae*, что превышало этот показатель для диких сородичей (*Ae. triaristata* – 9.6 %; *T. kiharae* и *T. timopheevii* – 18.0–21.8 %).

Анализ диких, культурных и интрогрессивных форм озимой пшеницы по биохимическому составу зерна методом многомерного статистического анализа позволил сгруппировать генотипы в три кластера: 1) интрогрессивные формы и сорт Комсомольская 1; 2) дикие виды; 3) преимущественно сорта и две интрогрессивные формы (рис. 1).

Интрогрессивные формы объединены в один кластер, что свидетельствует о сходстве их по биохимическому составу между собой и с видами *T. timopheevii* и *T. militinae*. Отдельный кластер образуют коммерческие сорта вместе с двумя интрогрессивными формами; они имеют схожее содержание протеина, его фракций, а также крахмала и амилозы.

Таким образом, по содержанию протеина для хлебопекарного типа наиболее перспективны формы Эритроспермум 350 $\times$ *T. militinae*, (Безостая 1 $\times$ *T. militinae*) $\times$ *T. militinae*-9 и Безостая 1 $\times$ *Ae. cylindrica*, которые формируют зерно класса «сильная» (14–16 % и выше), и генотип (Безостая 1 $\times$ *T. militinae*) $\times$ *T. militinae*-4 – класс «ценная». Сумма глиадиновых и глютеиновых фракций вполне достаточна для формирования клейковины от 52.1 до 59.2 % относительно сорта-стандарта Алмалы.

Технологическая характеристика интрогрессивных форм озимой пшеницы

По среднемноголетним данным (семь репродукций), натурная масса зерна синтетических форм озимой пшеницы варьирует от 703 до 819 г/л: 744 г/л для генотипа Безостая 1 $\times$ *Ae. cylindrica* и 770–776 г/л для генотипов Стекловидная 24 $\times$ *Ae. cylindrica*, Стекловидная 24 $\times$ *T. militinae*, Стекловидная 24 $\times$ *T. timopheevii*. У сорта-стандарта Алмалы этот показатель равен 767–816 г/л. Стабильно низкой натурой зерна отличались генотипы Эритроспермум 350 $\times$ *T. kiharae* и Безостая 1 $\times$ *Ae. cylindrica*. В отдельных репродукциях отмечен как низконатурный генотип (Безостая 1 $\times$ *Ae. cylindrica*) $\times$ *T. kiharae*.

В целом интрогрессивные формы формировали зерно класса «ценная» (50–100 % для разных интрогрессивных форм) и класса «филлер» (20–40 %). Зерно, отвечающее классу «сильная» (более 800 г/л), формировалось в 16 % всех исследованных случаев для генотипов Стекловидная 24 $\times$ *T. timopheevii* и Стекловидная 24 $\times$ *T. militinae* и в 10–12 % случаев – для генотипов Эритроспермум 350 $\times$ *T. militinae*, (Безостая 1 $\times$ *T. militinae*) $\times$ *T. militinae*, Эритроспермум 350 $\times$ *T. kiharae*, Жетысу $\times$ *T. timopheevii*, Безостая 1 $\times$ *Ae. cylindrica*.

Интрогрессивные формы характеризовались высоко-натурным зерном относительно диких сородичей для *T. timopheevii* (677–749 г/л), *T. militinae* (640–708 г/л), *Ae. cylindrica* (357–403 г/л), *Ae. triaristata* (689–713 г/л) и находились на уровне коммерческих сортов Жетысу (723–775 г/л), Стекловидная 24 (729–769 г/л), Эритроспермум 350 (696–739 г/л), Безостая 1 (725–774 г/л), Алмалы (749–816 г/л), Сапалы (790–798 г/л).

Данные по натурной массе коррелируют с крупностью и выравненностью в исходных популяциях (F_5 – F_8). Зерно интрогрессивных форм озимой пшеницы характеризуется как крупное, с суммой прохода через сита 2.8 и 2.5 мм более 80 % и преобладанием фракции 2.8 мм (от 42 до 64 %). Генотипам Эритроспермум 350 $\times$ *T. militinae* и Эритроспермум 350 $\times$ *T. kiharae* свойствен баланс фракций 2.8 и 2.5 мм (36–42 и 44–41 % соответственно).

По стекловидности зерна интрогрессивные формы пшеницы, как и дикие сородичи, относятся в основном к классу «сильная». В условиях полива у отдельных генотипов уровень стекловидности снижается до класса «ценная» – генотип (Безостая 1 $\times$ *Ae. cylindrica*) $\times$ *T. kiharae* и класса «филлер» – (Безостая 1 $\times$ *T. militinae*) $\times$ *T. militinae*-6, (Безостая 1 $\times$ *T. militinae*) $\times$ *T. militinae*-9, (Безостая 1 $\times$ *T. militinae*) $\times$ *T. militinae*-4 и Стекловидная 24 $\times$ *T. timopheevii*.

Твердозерность и выход муки – показатели, определяющие технологический тип использования зерна. Твердозерность интрогрессивных форм изучена по семи репродукциям в Казахстане и двум репродукциям в Турции. По результатам исследований в шести из семи репродукций Казахстана все генотипы отнесены к классу «твердозерная + среднетвердозерная». В урожае 2016 г. (Турция) с сильным увлажнением в процессе вегетации сформировался провокационный фон для дифференциации генотипов по твердозерности и ее стабильности. Часть образцов стабильно отвечала требованиям класса «твердозерная + среднетвердозерная» по четырем генотипам: Эритроспермум 350 $\times$ *T. militinae*, (Безостая 1 $\times$

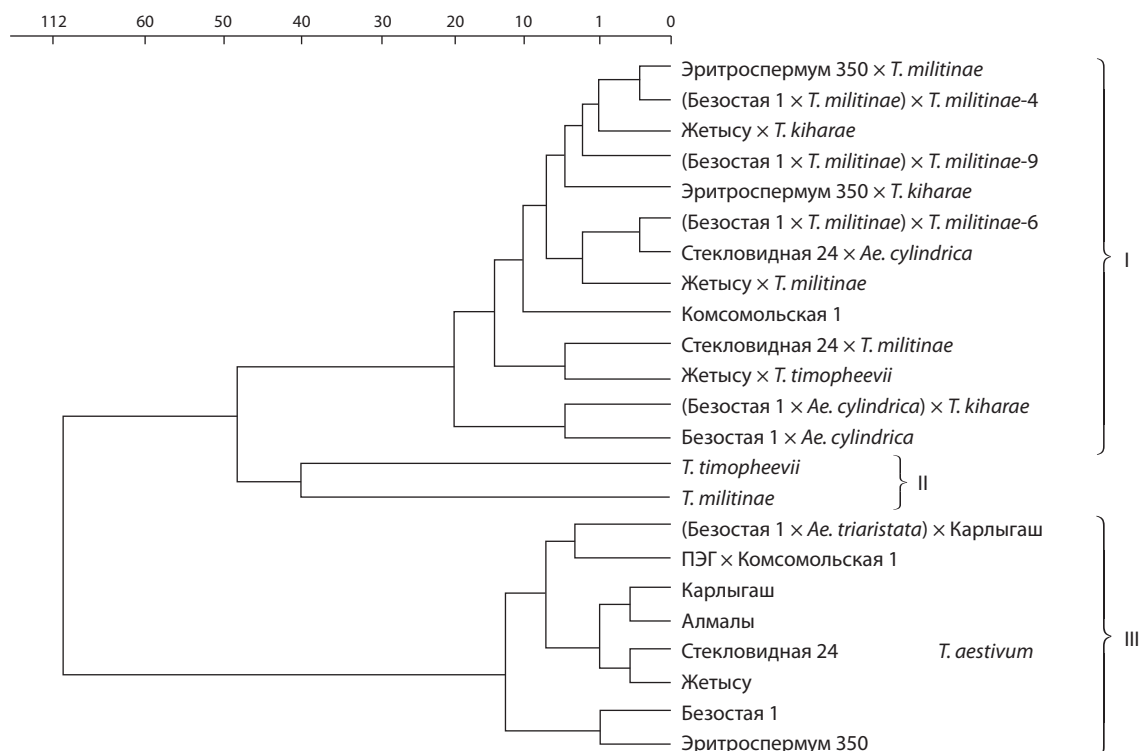


Рис. 1. Дендрограмма сходства-различий диких, культурных и интрогрессивных форм озимой пшеницы по биохимическому составу зерна (содержание протеина и фракций, крахмала, амилозы).

T. militinae) × *T. militinae*-4, Жетысу × *T. timopheevii*, Стекловидная 24 × *Ae. cylindrica*, (Безостая 1 × *Ae. triaristata*) × Карлыгаш, Эритроспермум 350 × *T. kiharae*. Уровень класса «полумягкозерная» отмечен для отдельных образцов генотипов: (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-6, Жетысу × *T. militinae*, Безостая 1 × *Ae. cylindrica* и сортов Алмалы, Карахан. К классу «мягкозерная» в урожае 2016 г. в одной из полевых повторностей отнесены генотипы (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-9 и Стекловидная 24 × *T. timopheevii* с индексом твердозерности 28 ед. SKCS 4100.

Таким образом, в основном (восемь из девяти репродукций) интрогрессивные формы пшеницы относятся к классу «среднетвердозерная». В условиях увлажненного фона выделены генотипы классов «смесь», «полумягкозерная» и «мягкозерная». Неоднозначность твердозерности отдельных генотипов по полевым повторениям диктует необходимость изучения и интерпретации их как разных популяций для генотипов (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-9; Жетысу × *T. militinae* и Стекловидная 24 × *T. timopheevii*. Установленный широкий спектр изменчивости твердозерности отдельных генотипов (от 28 до 69 ед. SKCS) на провокационном фоне позволяет констатировать высокий уровень генетического полиморфизма для отдельных популяций.

Судя по натурной массе и стекловидности, зерно интрогрессивных форм озимой мягкой пшеницы вполне пригодно для переработки в муку. Мука 70%-го выхода получена для всех образцов. Интрогрессивные формы характеризовались выходом муки от 63.7 % для генотипа Безостая 1 × *Ae. cylindrica* до 75.0 % для Эритроспер-

мум 350 × *T. militinae* (у сортов-стандартов Карахан и Алмалы – 64.8 и 77.3 % соответственно) за счет высокого содержания отрубей – 22.2 и 21.3 % для генотипов Безостая 1 × *Ae. cylindrica* и Карахан; кормовой муки – до 8.8 и 9.9 % для генотипов Эритроспермум 350 × *T. kiharae* и Эритроспермум 350 × *T. militinae* соответственно. В условиях 2014 г. относительно низкий выход муки отмечен для генотипов Жетысу × *T. militinae*, Безостая 1 × *Ae. cylindrica* и (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-9, что связано с условиями формирования зерна.

Мука, выработанная из зерна интрогрессивных форм пшеницы, по зольности относится к высшему сорту (0.47–0.55), за исключением муки из зерна генотипов: Эритроспермум × *T. kiharae* – зольность 0.56–0.57 (1-й сорт), Эритроспермум 350 × *T. militinae* – 0.57–0.61 (2-й сорт), а в урожае 2015 г. из зерна генотипов Жетысу × *T. timopheevii* – зольность 0.58–0.59 и Безостая 1 × *Ae. triaristata* – 0.57–0.58. По белизне муки наблюдалась аналогичная картина: мука отвечает требованиям высшего сорта, кроме муки из зерна генотипа Жетысу × *T. militinae* с белизной 50.3 ед., характерной для муки 1-го сорта. В то же время повышенная зольность муки и ее более темный цвет могут быть обусловлены более высоким содержанием микроэлементов, что в свою очередь связано с питательностью зерна. Интерес к этим формам возник в связи с биофортификацией пшеницы и повышенным содержанием в зерне Fe и Zn (Morgounov et al., 2007; Савин и др., 2009).

Седиментация муки (уксусная кислота, метод Зелени). Показатель седиментации муки в 2%-й уксусной кислоте (Синицин, Зелова, 1978) для интрогрессивных форм варьировал в значительных пределах в зависимо-

сти от генотипа: минимальные значения – от 24 мл для генотипа Безостая $1 \times Ae. cylindrica$ до 52 мл для (Безостая $1 \times Ae. cylindrica$) $\times T. kiharae$; максимальные значения – от 56 мл для Безостая $1 \times Ae. cylindrica$ до 90–92 мл для генотипов (Безостая $1 \times Ae. triaristata$) $\times$ Карлыгаш, Стекловидная $24 \times T. timopheevii$; средние значения – от 36 мл для генотипа Безостая $1 \times Ae. cylindrica$ до 56–58 мл для генотипов Стекловидная 24 от $T. timopheevii$ и (Безостая $1 \times Ae. cylindrica$) $\times T. kiharae$. В целом исследованные генотипы озимой мягкой пшеницы представлены преимущественно (54 % всего блока) образцами класса «филлер»: от 30 % из всех исследованных (Жетысу $\times T. timopheevii$) до 100 % (ПЭГ $\times$ Комсомольская 1, Стекловидная $24 \times T. militinae$). До 35 % всех образцов блока относятся к классу «ценная». Это генотипы (Безостая $1 \times Ae. cylindrica$) $\times T. kiharae$ (100 %), Стекловидная $24 \times T. timopheevii$ (88 %), Эритроспермум $350 \times T. militinae$, Жетысу $\times T. militinae$ и Жетысу $\times T. timopheevii$ (70 %). Последний генотип выделяется также максимальным числом образцов класса «сильная» в урожае 2015–2016 гг. с уровнем седиментации 70–89 мл.

Наиболее высокий прогноз стабильного качества по седиментации в 2%-й уксусной кислоте отмечен для генотипов Стекловидная $24 \times T. timopheevii$ (по сумме частоты встречаемости классов «сильная + ценная» – 12+88 % от всех изученных образцов); Жетысу $\times T. timopheevii$ (30+40 %); (Безостая $1 \times Ae. cylindrica$) $\times T. kiharae$ (0+100 %); (Безостая $1 \times Ae. triaristata$) $\times$ Карлыгаш (20+30 %); Жетысу $\times T. militinae$ и Эритроспермум $350 \times T. militinae$ (10+40 %) на фоне сорта-стандарта Алмалы (0+40 %). По норме реакции на условия года выращивания генотипы отличались от относительно стабильных: коэффициент изменчивости $k = 1.2$ для генотипов ПЭГ $\times$ Комсомольская 1, Стекловидная $24 \times T. militinae$, (Безостая $1 \times Ae. cylindrica$) $\times T. kiharae$, Жетысу $\times T. kiharae$ по четырем вегетациям; $k = 1.9$ для генотипа Стекловидная $24 \times Ae. cylindrica$ по семи репродукциям; $k = 2.7$ –3.6 для генотипов (Безостая $1 \times Ae. triaristata$) $\times$ Карлыгаш и (Безостая $1 \times T. militinae$) $\times T. militinae$ -9. Изменчивость седиментации по годам варьировала также от 1.5–1.8 раза в 2006 и 2014 гг. до 2.4–2.6 раза в 2007, 2008 и 2016 гг. в наиболее увлажненных и урожайных репродукциях.

По данным седиментации Зелени (осаждение муки в молочной кислоте), в репродукциях 2014–2016 гг. получена мука 1-го и 2-го класса качества, т. е. сильная и ценная: >70 мл и 69–50 мл с размахом изменчивости от 47 мл для генотипа (Безостая $1 \times T. militinae$) $\times T. militinae$ -9 до 82 мл для генотипов Безостая $1 \times Ae. cylindrica$ и Стекловидная $24 \times Ae. cylindrica$.

Использование более увлажненного и потенциально высокоурожайного фона позволило констатировать снижение качества муки, по данным седиментации Зелени, от 34–35 мл для генотипов (Безостая $1 \times Ae. triaristata$) $\times$ Карлыгаш, Безостая $1 \times Ae. cylindrica$ до 64–68 мл для генотипов Стекловидная $24 \times T. timopheevii$, Эритроспермум $350 \times T. militinae$, Жетысу $\times T. militinae$ и увеличение диапазона изменчивости ($k = 1.1$ –1.8). К классу «сильная» относятся около трети всех исследованных образцов следующих генотипов: Безостая $1 \times Ae. cylindrica$ (44 % класса «сильная»); Жетысу $\times T. timopheevii$ (40 %);

Стекловидная $24 \times T. timopheevii$, Жетысу $\times T. militinae$, Эритроспермум $350 \times T. militinae$ и (Безостая $1 \times Ae. triaristata$) $\times$ Карлыгаш (30 %). К классу «ценная» относится около двух третей образцов для генотипов: Стекловидная 24 от $T. timopheevii$ (70 % класса «ценная»); Эритроспермум $350 \times T. kiharae$ (67 %); (Безостая $1 \times T. militinae$) $\times T. militinae$ -9 (60 %). Генотипы (Безостая $1 \times Ae. cylindrica$) $\times T. kiharae$ и Стекловидная $24 \times T. timopheevii$ формируют во всех репродукциях ценное по качеству зерно (52–67 и 43–92 мл). Класс «ценная + слабая» характерен для зерна генотипа Безостая $1 \times Ae. cylindrica$ в 45 % исследованных образцов (24–40 мл). Для генотипов (Безостая $1 \times T. militinae$) $\times T. militinae$ -4 и (Безостая $1 \times T. militinae$) $\times T. militinae$ -9 преобладающее число образцов (58–70 %) представлено классом «слабая» с седиментацией 25–28 мл.

В сравнении с интрогрессивными формами дикие виды характеризуются более низким уровнем седиментации Зелени: 17–18 мл для $T. timopheevii$, $T. militinae$ и 22–27 мл для эгилопсов, несмотря на высокое содержание протеина. Интрогрессивные формы вполне сопоставимы по уровню седиментации муки с сортами: Жетысу – 42–50 мл; Стекловидная 24 – 42–27 мл; Эритроспермум 350 – 42–60 мл; Безостая 1 – 45–54 мл; Карлыгаш – 46–47 мл.

В целом интрогрессивные формы относятся к классам «слабая» (30–100 % от исследованных образцов) и «ценная» (10–100 %); по данным седиментации в уксусной кислоте – к классам «сильная» (7–30 % образцов) и «слабая» (10–50 % образцов); по данным седиментации Зелени – к классам «ценная» (20–70 %) и «сильная» (17–44 %) в зависимости от генотипа, условий выращивания и их взаимодействий.

Содержание протеина в муке 70%-го выхода высшего сорта является показателем качества муки как продукта переработки зерна и варьирует в условиях КИЗ от 13.7 % для генотипа Эритроспермум $350 \times T. militinae$ до 18.6 % для Безостая $1 \times Ae. cylindrica$ в урожае 2014 г., от 13.4 % для генотипов Эритроспермум $350 \times T. kiharae$ и (Безостая $1 \times T. militinae$) $\times T. militinae$ -9 до 17.5 % для генотипа Безостая $1 \times Ae. cylindrica$ в 2015 г. и от 12.2 % для генотипа (Безостая $1 \times T. militinae$) $\times T. militinae$ -9 до 16.3 % для генотипа Эритроспермум $350 \times T. militinae$ в урожае 2016 г.

Высокому содержанию протеина как в зерне, так и в муке соответствует высокое содержание клейковины в муке – от минимального 27.2 % для генотипа Эритроспермум $350 \times T. militinae$ и сорта-стандарта Алмалы до 46.0–48.0 % для генотипов Жетысу $\times T. militinae$, Стекловидная $24 \times Ae. cylindrica$ и (Безостая $1 \times T. militinae$) $\times T. militinae$ -9. По количеству клейковины в муке практически все интрогрессивные формы относятся к классам «сильная» (78–100 %) и «ценная» (10–22 %) по сравнению с сортом-стандартом Алмалы (50 % «сильная» + 50 % «ценная»). Сравнение клейковины в зерне и в муке в различные годы позволило подтвердить высокое содержание клейковины, отвечающее требованиям класса «сильная» (50–100 % исследованных образцов) и «ценная» (20–50 %). Независимо от метода, объекта и репродукции, три генотипа характеризовались тенденцией снижения количества клейковины: Эритроспермум $350 \times T. militinae$

nae (до 28.3 %), (Безостая 1 × *Ae. triaristata*) × Карлыгаш (до 23.2 %) и (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-6 (23.0 %).

Для оценки качества клейковины пользовались принятым ранжированием (ед. ИДК): 45–75 – класс «сильная»; 40 и 85 – класс «ценная»; 35–20 и 90–100 – класс «филлер»; 105–120 – класс «слабая». Качество клейковины у интрогрессивных форм варьирует в значительных пределах: от 65 ед. ИДК для генотипа (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-9 до 115 ед. ИДК для генотипов (Безостая 1 × *Ae. triaristata*) × Карлыгаш и Стекловидная 24 × *Ae. cylindrica* и 110 ед. ИДК для генотипов Стекловидная 24 × *T. militinae*, Эритроспермум 350 × *T. kiharae* и Безостая 1 × *Ae. cylindrica*. По средним данным за семилетние испытания, качество клейковины варьирует от 86–91 ед. ИДК для (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-9, Жетысу × *T. timopheevii*, (Безостая 1 × *Ae. cylindrica*) × *T. kiharae*, Жетысу × *T. militinae*, Стекловидная 24 × *T. timopheevii*, что соответствует второй группе качества (класс «хороший филлер»), до 98 ед. ИДК – класс «удовлетворительный филлер» (Приложение 3). Основная часть образцов (30–100 %) относится к классу «филлер». Уровнем класса «сильная» максимально характеризуются генотипы (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-9 (до 38 % от всех изученных образцов) и Эритроспермум 350 × *T. kiharae* (до 20 %). Уровень класса «ценная» максимально выявлен для генотипов (Безостая 1 × *Ae. cylindrica*) × *T. kiharae* и Жетысу × *T. timopheevii* – до 60 и 40 % соответственно. Класс «слабая» выявлен для генотипов Безостая 1 × *Ae. cylindrica* и Стекловидная 24 × *Ae. cylindrica* (до 40–45 %). Как наиболее качественные выделены генотипы (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-9 (75–90 ед. ИДК), а со слабой клейковиной – интрогрессивные формы с участием *Ae. cylindrica* (90–100 ед. ИДК).

Водопоглощательная способность муки для синтетических форм варьировала от 58.4 мл для генотипа Безостая 1 × *Ae. cylindrica*, сорта Карахан и 54.4 мл для генотипа Стекловидная 24 от *T. timopheevii* до 66.6 мл для генотипов Жетысу × *T. timopheevii* и Эритроспермум 350 × *T. militinae*. Стабильно максимальной степени выраженности этого признака в трех репродукциях характеризовались формы Жетысу × *T. timopheevii*, Эритроспермум 350 × *T. militinae* и Жетысу × *T. militinae*.

По разжижению теста как отвечающие требованиям класса «сильная+ценная» выделяются генотипы Стекловидная 24 × *Ae. cylindrica* и Жетысу × *T. timopheevii* (до 60–66 % от всех изученных образцов) и половина всех образцов для генотипов (Безостая 1 × *Ae. triaristata*) × Карлыгаш, Эритроспермум 350 × *T. militinae* и Стекловидная 24 × *T. timopheevii*. Основная часть исследованных образцов данного блока интрогрессивных форм относится к классу «филлер»: от 25 % для генотипа (Безостая 1 × *Ae. triaristata*) × Карлыгаш и до 66 % для генотипа Безостая 1 × *Ae. cylindrica* на фоне сортов-стандартов Алмалы (75 %) и Карахан (100 %).

Валориметрическая оценка изменяется в диапазоне от 21 е. ф. для генотипа (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-4 до 56 и 62 е. ф. для генотипов Стекловидная 24 × *Ae. cylindrica* и (Безостая 1 × *Ae. triaristata*) × Карлыгаш. Преобладающая часть образцов озимых интрогрессивных форм

относится к классу «филлер» по смешительной ценности (Приложение 4).

Таким образом, по физическим свойствам муки и теста синтетики варьируют по разжижению теста на уровне 80–170 е. ф., т. е. на уровне «филлера» и «слабой» пшеницы, с лучшим значением как по разжижению, так и по валориметрической оценке для генотипов (Безостая 1 × *Ae. triaristata*) × Карлыгаш и Эритроспермум 350 × *T. militinae* – 80 ед. разжижения, 49 ед. фаринографа и 80–45 е. ф. соответственно в урожае 2014 г. Эти же генотипы стабильно выделялись и в последующем по валориметрической оценке: урожай 2015–2016 гг. – 62–57 и 50–55 е. ф. (класс «ценная», 67 и 50 % соответственно).

По данным альвеографирования, отношение P/L (упругость/растяжимость) характеризовало тесто из муки зерна интрогрессивных форм как растяжимое (менее 0.7). Лишь отдельные генотипы отвечали требованиям класса «сильная» (0.8–1.2) во второй полевой повторности: Эритроспермум 350 × *T. militinae* и (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-9 и близкие к классу «ценная» генотипы Эритроспермум 350 × *T. kiharae* в урожае 2015 г. В целом по величине P/L большая часть образцов относится к классам «филлер» и «слабая».

По силе муки (W) стабильно повышенным значением (219–279 е. а.) выделяется генотип Жетысу × *T. timopheevii* (см. Приложение 4). В отдельных репродукциях и полевых повторностях отмечаются генотипы (Безостая 1 × *Ae. triaristata*) × Карлыгаш (253 и 387 е. а. в 50 % исследованных образцов) и Жетысу × *T. militinae* (254–285 е. а. в 50 % образцов); в единичных образцах высокие значения зафиксированы для генотипов Стекловидная 24 × *T. timopheevii* (326 е. а.) и (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-9 (297 е. а.). Стабильное высокое значение силы муки отмечено для форм Эритроспермум 350 × *T. kiharae* (213–259 е. а.) и Стекловидная 24 × *Ae. cylindrica* (205–259 е. а.).

Хлебопекарный анализ интрогрессивных озимых форм пшеницы позволил установить вариабельность по объему хлеба: от 500 мл для генотипа Эритроспермум 350 × *T. militinae* в урожае 2015 г. до 1005 мл для генотипа Жетысу × *T. timopheevii* и 990 мл для генотипа (Безостая 1 × *Ae. triaristata*) × Карлыгаш в урожае 2016 г. (рис. 2). По среднелетним максимальным значениям в трех репродукциях выделяются также генотипы Жетысу × *T. timopheevii* (830 мл), (Безостая 1 × *Ae. triaristata*) × Карлыгаш (819 мл) и Стекловидная 24 × *T. timopheevii* (818 мл). По минимальным значениям объема хлеба отмечены генотипы Эритроспермум 350 × *T. kiharae* (694 мл) и Безостая 1 × *Ae. cylindrica* (699 мл). В целом все образцы по объему хлеба относятся к классам «филлер» и «слабая» с преобладанием «филлера» до 50–67 %: (Безостая 1 × *Ae. triaristata*) × Карлыгаш, Жетысу × *T. timopheevii*, Стекловидная 24 × *T. timopheevii*, (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-4, (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-6, (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-9. По общей хлебопекарной оценке отмечен диапазон изменчивости от 2.0 баллов для генотипа Безостая 1 × *Ae. cylindrica* в урожае 2014 г. до 4.34 балла для генотипа (Безостая 1 × *Ae. triaristata*) × Карлыгаш в урожае 2016 г. и до 4.02 балла для генотипов Стекловидная 24 × *T. timopheevii* и Жетысу × *T. timopheevii*. Таким образом, зерно интрогрессивных

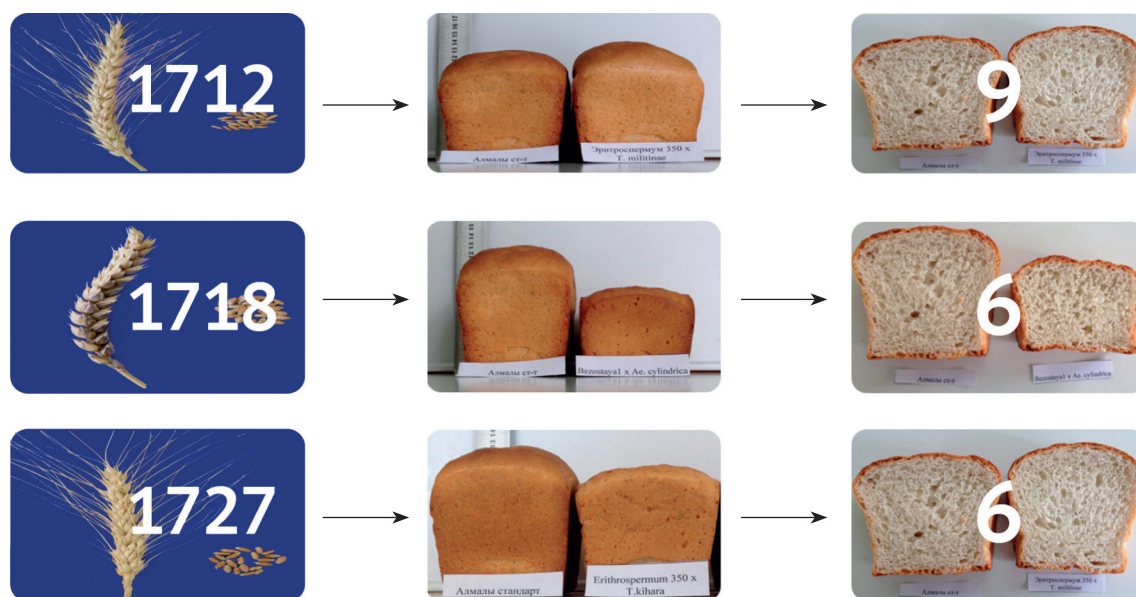


Рис. 2. Хлебопекарный анализ качества муки из зерна интродуктивных форм озимой пшеницы относительно сорта-стандарта Алматы в сравнении с прогнозом по составу ВМС-глютемина шкалы Рауне (6 и 9 баллов).

синтетических форм вполне пригодно для переработки в муку. По физическим свойствам муки, теста, хлебопекарным показателям образцы сопоставимы с уровнем стандартов классов «ценная» и «филлер».

Интродуктивные формы озимой мягкой пшеницы исследованы в двух репродукциях по составу глютемина и глиаина. Разнообразие субъединиц, кодируемых 1А хромосомой, обнаружено в пределах культурных форм (2*, 1 и 0). У родительских сортов в основном отмечена субъединица 2*, как и для *T. timopheevii* и *T. militinae* (Приложение 5).

По 1В хромосоме отмечены стандартно высококачественные субъединицы – «7+9» и «7+8»; низкокачественные – «7*» и «6+8»; достаточно редкие в генофонде – субъединица «21+8»; практически не встречающиеся – «6» (вкупе с «7+9»). По 1D хромосоме интродуктивные формы характеризуются двумя основными субъединицами: «5+10» и «2+12», для форм с участием *T. kiharae* отмечена субъединица «4+10», а для генотипа Безостая 1 × *Ae. cylindrica* – «3+12». Для образцов Жетысу × *T. militinae*, Безостая 1 × *Ae. cylindrica*, Стекловидная 24 × *Ae. cylindrica* и Эритроспермум 350 × *T. kiharae* отмечен полиморфизм по 1В/1R транслокации.

Только шесть генотипов интродуктивных форм из двенадцати отличались гомогенностью и идентичностью в обеих репродукциях (см. Приложение 5): (Безостая 1 × *Ae. triaristata*) × Карлыгаш, (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-6, (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-9, (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-4, Эритроспермум 350 × *T. militinae* и ПЭГ × Комсомольская 1 с прогнозом высокого качества по шкале Рауне (9 баллов), за исключением линий (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-6 и (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-4 (5 баллов).

Ряд генотипов характеризуется неоднородностью по составу субъединиц, которая по вкладу в качество в целом не влияет на прогнозную оценку: Стекловидная 24 × *T. militinae*

варьирует по 1В по субъединицам «7+8» или «7+9», но общий прогноз 10 или 9 баллов. Генотип Стекловидная 24 × *Ae. cylindrica* варьирует по 1В хромосоме («7*» и «21+8») с прогнозно низкой оценкой 6 баллов, как и генотип Безостая 1 × *Ae. cylindrica* (6/5 баллов).

Сорта озимой мягкой пшеницы, использованные в скрещиваниях, характеризуются ценными аллелями в отношении качества (9 и 10 баллов по шкале Рауне). Идентификация, а следовательно, и прогноз качества зерна по диким сорочикам затруднительны ввиду резкого отличия от культурного генофонда и полиморфизма исходных образцов. Интродуктивные формы озимой мягкой пшеницы ранжированы по прогнозной оценке шкалы Рауне от 5 до 10 баллов генетически потенциального качества. Фенотипическая реализация согласно технологической оценке позволяет отнести только небольшую часть генотипов (до 18 %) к классу «сильная» по признакам качества клейковины и силы муки (Приложение 6).

Таким образом, интродуктивные формы озимой пшеницы по технологической оценке хлебопекарного типа относятся в основном к классам «ценная» и «филлер», по силе муки и объему хлеба – к классу «слабая». При этом, согласно анализу состава ВМС глютемина и 1В/1R транслокации, примерно 60 и 86 % от всех образцов прогнозируются как класс «сильная» (9–10 баллов по шкале Рауне), т. е. состав глютемина не объясняет всех различий в технологической оценке качества зерна.

Анализ муки по содержанию клейковины методом ИСО (отмывание соевым раствором), предполагающий состав клейковины из технологически значимых белков (глиаина и глютемина), выявил ее уровень от 28.5 % для генотипа Эритроспермум 350 × *T. militinae* до 39.6 % для генотипа Жетысу × *T. militinae*. При этом качество клейковины первой группы (класс «сильная») характерно для генотипов Эритроспермум 350 × *T. militinae*, (Безостая 1 × *T. militinae*) × *T. militinae*-9.

По физическим свойствам муки и теста интрогрессивные формы варьируют по разжижению теста на уровне 80–170 е. ф., т. е. на уровне классов пшеницы «филлер» и «слабая», с лучшим значением как по разжижению, так и по валориметрической оценке для генотипов Безостая 1 $\times$ *Ae. triaristata* и Эритроспермум 350 $\times$ *T. militinae*. Хлебопекарная оценка показывает, что из муки зерна интрогрессивных форм выпекают хлеб, объем которого сопоставим с таковым из зерна современных сортов, в том числе превышает сорта-стандарты Алмапы (720–760 мл) и Карахан (800 мл), по внешнему виду, пористости хлеба, объему и общей оценке. По твердозерности дикие сородичи и интрогрессивные формы характеризовались в основном как средне- и твердозерные (52–93 ед. SKCS). Образцы, выделенные по урожайности и устойчивости к болезням, классифицированы по требованиям к хлебопекарным пшеницам.

По высоко- и низкомолекулярным субъединицам глютеина отмечен полиморфизм отдельных интрогрессивных форм как возможность отбора и гомозиготизации методом дигаплоидизации, в том числе межвидовых и межродовых гибридов (Yerzhebaeva, Abugaliyeva, 2016), многих полиморфных сортов зерновых в СНГ (Shavrukov et al., 2014; Nurpeissov et al., 2015; Turuspekov et al., 2016) по результатам их исследований с использованием различных типов маркеров.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Кожанметов К., Аbugалиева А.И. Селекционное достижение: пшеница мягкая озимая «Ерпеудо-24». Пат. № 784 от 02.11.2017.
- Кожанметов К., Аbugалиева А.И., Башабаева Б.М. Селекционное достижение: пшеница мягкая озимая «Преффер-22». Пат. № 783 от 02.11.2017.
- Кожанметов К., Аbugалиева А.И., Савин Т.В., Башабаева Б.М. Способ создания самофертильных аллоплазматических эуплоидных и анеуплоидных линий мягкой пшеницы. Пат. № 31891 от 20.02.2017.
- Перуанский Ю.В., Аbugалиева А.И., Савин В.Н. Методы биохимической оценки коллекционного и селекционного материала. Под ред. Ю.В. Перуанского. Алматы, 1996.
- Перуанский Ю.В., Аbugалиева А.И., Тажибаева Т.Л. Способ определения устойчивости генотипов пшеницы к стрессовым факторам. Пат. РК № 8174. 1999.
- Савин В.Н., Аbugалиев И.А., Аbugалиева А.И. Оптимизация аналитического состава зерна диких сородичей и интрогрессивных форм в селекции пшеницы. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(1):88-96.
- Синицын С.С., Зелова Л.А. Массовое двукратное определение силы муки пшеницы на навесках зерна от 0.5 до 0.15 г. Сиб. вестн. с.-х. науки. 1978;3:39-44.
- Хлесткина Е.К., Пшеничникова Т.А., Усенко Н.И., Отмахова Ю.С. Перспективные возможности использования молекулярно-генетических подходов для управления технологическими свойствами зерна пшеницы в контексте цепочки «зерно–мука–хлеб». Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(4):511-527.
- Щукина Л.В., Чистякова А.К., Морозова Е.В., Пшеничникова Т.А., Симонов А.В. Влияние интрогрессий от диких сородичей в геном мягкой пшеницы на разнообразие по технологическим свойствам зерна и муки. Докл. и сообщ. XI Междунар. генетико-селекционной школы-семинара «Современное состояние и приоритетные направления развития генетики, эпигенетики, селекции и семеноводства сельскохозяйственных культур». Новосибирск, 2012;304-311.
- Abugaliyeva A., Chudinov V., Morgounov A., Kozhakhmetov K. Using wild relatives for creating disease-resistant spring wheat varieties. Proc. 13th Int. Wheat Genetics Symposium. Austria, Tulln, 23–28 April, 2017;217.
- Abugaliyeva A.I., Peña-Bautista R.J. Grain quality of spring and winter wheat in Kazakhstan. Asian Australas. J. Plant Sci. Biotechnol. 2010;4:87-90.
- Alvarez J.B., Guzman C. Interspecific and intergeneric hybridization as a source of variation for wheat grain quality improvement. Theor. Appl. Genet. 2018;131:225. DOI 10.1007/S00122-017-3042-x.
- Aykut Tonk F., İlker E., Tosun M. A study to incorporate high protein content from tetraploid wheat (*T. turgidum dicoccoides*) to hexaploid wheat (*T. aestivum vulgare*). Turk. J. Field Crops. 2010;15(1):69-72.
- Brown-Guedira G.L., Guedira M., Fritz A.K., Martin T.J., Chung O.K., Lockhart G.L., Seabourn B.W., Gill B.S., Cox T.S. Notice of release of KS04WGRC49 hard winter wheat germ plasm with unique glutenin and gliadin proteins. Annu. Wheat Newslett. 2005;51:190.
- Cox T.S., Bequette R.K., Bowden R.L., Sears R.G. Grain yield and breadmaking quality of wheat lines with the leaf rust resistance gene *Lr41*. Crop Sci. 1997;37:154-161.
- Cox T.S., Sears R.G., Bequette R.K. Use of winter wheat $\times$ *Triticum tauschii* backcross populations for germplasm evaluation. Theor. Appl. Genet. 1995a;90:571-577.
- Cox T.S., Sears R.G., Bequette R.K., Martin T.J. Germplasm enhancement in winter wheat $\times$ *Triticum tauschii* backcross populations. Crop Sci. 1995b;35:913-919.
- Cox T.S., Wu J., Wang S., Cai J., Zhong Q., Fu B. Comparing two approaches for introgression of germplasm from *Aegilops tauschii* into common wheat. Crop J. 2017;5:355-362. DOI 10.1016/j.cj.2017.05.006.
- Eagles H.A., McLean R.B., Eastwood R.F., Appelbee M.-J., Cane K., Martin P.J., Wallwork H. High-yielding lines of wheat earring *Gpc-B1* adapted to Mediterranean-type environments of the south and west of Australia. Crop Pasture Sci. 2014;65(9):854-861. DOI 10.1071/cpl4106.
- Eggert K., Wieser H., Pawelzik E. The influence of *Fusarium* infection and growing location on the quantitative protein composition of (part I) emmer (*Triticum dicoccum*). Eur. Food Res. Technol. 2010;230:837-847.
- Gill B.S., Friebe B., Raupp W.J., Wilson D.L., Cox T.S., Sears R.G., Brown-Guedira G.L., Fritz A.K. Wheat Genetics Resource Center: the first 25 years. Adv. Agron. 2006;89:73-136.
- Hsam S.L.K., Kieffer R., Zeller F.J. Significance of *Aegilops tauschii* glutenin genes on bread-making properties of wheat. Cereal Chem. 2001;78:521-525.
- Hussein H.A., Ebtissam H.A.H., El-Sayed O.E., Al-Ansary A.M.F., Khatab S.A., Sally A.A.R. Inter specific crosses and marker assisted selection for improving the nutritional value of Egyptian wheat cultivars. Int. J. Agric. Res. 2014;9(3):119-135. DOI 10.3923/ijar.2014.113.135.
- Intiaz M., Ogbonnaya F.C., Oman J., van Ginkel M. Characterization of QTLs controlling genetic variation for pre-harvest sprouting in synthetic backcross derived wheat lines. Genetics. 2008;178:1725-1736.
- Klindworth D.L., Hareland G.A., Elias E.M., Faris J.D., Chao S., Xu S.S. Agronomic and quality characteristics of two new sets of Langdon durum–wild emmer wheat chromosome substitution lines. J. Cereal Sci. 2009;50:29-35. DOI 10.1016/j.jcs.2009.02.003.

- Kozhahmetov K.K., Abugaliyeva A.I. Using gene fund of wild relatives for common wheat improvement. *Int. J. Biol. Chem.* 2014;41(2):41-43.
- Kunert A., Naz A.A., Dedek O., Pillen K., Leon J. AB-QTL analysis in winter wheat: I. Synthetic hexaploid wheat (*T. turgidum* ssp. *dicoccoides* × *T. tauschii*) as a source of favourable alleles for milling and baking quality traits. *Theor. Appl. Genet.* 2007;115:683-695.
- Lagudah E.S., Macritchie P., Halloran G.M. The influence of high-molecular-weight subunits of glutenin from *Triticum tauschii* on flour quality of synthetic hexaploid wheat. *J. Cereal Sci.* 1987;5:129-138.
- Lan X.J., Yen C. An amphidiploid derived from a Chinese landrace of tetraploid wheat, Ailanmai, crossed with *Aegilops tauschii* native to China with reference to its utilization in wheat breeding. *J. Sichuan Agric. Univ.* 1992;10:581-585.
- Li J., Wan U.S., Yang W.Y. Synthetic hexaploid wheat enhances variation and adaptive evolution of bread wheat in breeding processes. *J. Syst. Evol.* 2014;52:735-742.
- Mackie A.M., Sharp P.J., Lagudah E.S. The nucleotide and derived amino acid sequence of a HMW-glutenin gene from *Triticum tauschii* and comparison with those from the D-genome of bread wheat. *J. Cereal Sci.* 1996;24:73-78.
- Mishra V.K., Gupta P.K., Arun B., Chand R., Vasistha N.K., Vishwakarma M.K., Yadav P.S., Joshi A.K. Introgression of a gene for high grain protein content (*Gpc-B1*) into two leading cultivars of wheat in Eastern Gangetic Plains of India through marker assisted back-cross breeding. *J. Plant Breed. Crop Sci.* 2015;7(8):292-300. DOI 10.5897/JPCS2015.0514.
- Morgunov A.I., Gomez-Becerra H.F., Abugaliyeva A.I., Dzhusunova M., Yessimbekova M.A., Muminjanov H., Zelenskiy Y., Ozturk L., Cakmak Y. Iron and zinc grain density in common wheat grown in Central Asia. *Euphytica.* 2007;155:193-203.
- Nurpeissov M., Abugaliyeva A., Langdon T. Genetic identification of Kazakhstan OAT varieties. *Biosci. Biotechnol. Res. Asia.* 2015;12(3):2227-2233. DOI 10.13005/bbra/1895.
- Ogbonnaya F.C., Abdalla O., Mujeeb-Kazi A., Kazi A.G., Xu S.S., Gosman N., Lagudah E.S., Bonnett D., Sorrells M.E., Tsujimoto H. Synthetic hexaploids: harnessing species of the primary gene pool for wheat improvement. *Plant Breed. Rev.* 2013;37:35-122. DOI 10.1002/9781118497869.ch2.
- Shavrukov Yu., Suchecki R., Eliby S., Abugaliyeva A., Kenenbaev S., Langridge P. Application of next-generation sequencing technology to study genetic diversity and identify unique SNP markers in bread wheat from Kazakhstan. *BMC Plant Biol.* 2014;14:258. DOI 1471-2229/14/258.
- Tabbita F., Lewis S., Vouilloz J.P., Ortega M.A., Kade M., Abbate P.E., Barneix A.J. Effects of the *Gpc-B1* locus on high grain protein content introgressed into Argentinean wheat germplasm. *Plant Breed.* 2013;132:48-52. DOI 10.1111/pbr.12011.
- Tang Y.I., Yang W.Y., Tian J.C., Li J., Chen F. Effect of HMW-GS 6+8 and 1.5+10 from synthetic hexaploid wheat on wheat quality traits. *Agric. Sci. China.* 2008;7:1161-1171.
- Turuspekov Y., Sariev B., Chudinov V., Sereda G., Tokhetova L., Ortaev A., Tsygankov V., Doszhanov M., Volis S., Abugaliyeva S. Genotype × environment interaction patterns for grain yield of spring barley in different regions of Kazakhstan. *Russ. J. Genetics.* 2013;49(2):196-205.
- Uauy C., Distelfeld A., Fahima T., Blechl A., Dubcovsky J. A NAC gene regulating senescence improves grain protein, zinc, and iron content in wheat. *Science.* 2006;314:1298-1301.
- Vishwakarma M.K., Mishra V.K., Gupta P.K., Yadav P.S., Kumar H., Joshi A.K. Introgression of the high grain protein gene *Gpc-B1* in an elite wheat variety of Indo-Gangetic Plains through marker assisted backcross breeding. *Curr. Plant Biol.* 2014;1:60-67. DOI 10.1016/j.cpb.2014.09.003.
- Yerzhebayeva R., Abugaliyeva A. Anther Culture of Synthetic Wheat Obtained by Distant Hybridization. *Conf. Plant Cells in vitro: Theory and Practice.* Vienna, Austria, 8–9 February, 2016;41.



Структура популяций листовых патогенов яровой пшеницы в западноазиатских регионах России и Северном Казахстане в 2017 г.

Е.И. Гультяева¹✉, Н.М. Коваленко¹, В.П. Шаманин², В.А. Тюнин³, Е.Р. Шрейдер³, Е.Л. Шайдаюк¹, А.И. Моргунов⁴

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия

² Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина, Омск, Россия

³ Челябинский научно-исследовательский институт сельского хозяйства, Челябинская область, Чебаркульский район, пос. Тимирязевский, Россия

⁴ Международный центр улучшения кукурузы и пшеницы (CIMMYT), Анкара, Турция

Листовые болезни яровой пшеницы – бурая ржавчина (возбудитель – *Puccinia tritica*), желтая пятнистость (пиренофороз) (*Pyrenophora tritici-repentis*) и темно-бурная пятнистость (*Cochliobolus sativus* = *Bipolaris sorokiniana*) – относятся к группе распространенных и потенциально опасных болезней в западноазиатских регионах России и Северном Казахстане. Для обоснования стратегий генетической защиты пшеницы необходимы популяционные исследования фитопатогенов. Цель работы – характеристика структуры популяций возбудителей бурой ржавчины и желтой пятнистости яровой пшеницы по признакам вирулентности и оценка распространенности возбудителя темно-бурной пятнистости в западноазиатских регионах Российской Федерации и Северном Казахстане в 2017 г. Источником инфекционного материала служили пораженные бурой ржавчиной и пятнистостями листья образцов яровой пшеницы, собранные в Челябинской и Омской областях и Северном Казахстане. Анализ вирулентности 109 изолятов *P. tritica* на 20 линиях-дифференциаторах показал, что все изученные монопустульные изоляты были авирулентны к TcLr24. Изоляты, вирулентные к TcLr19, выявлены только в челябинской популяции. Частоты вирулентных изолятов к TcLr2a, TcLr2b, TcLr2c, TcLr11, TcLr15, TcLr16, TcLr20 и TcLr26 были выше в омской и североказахстанской популяциях, а к TcLr9 – в челябинской. При использовании 20 TcLr-линий определено 27 фенотипов вирулентности *P. tritica*: 12 в омской, 19 в челябинской, 8 в казахстанской. Фенотипы TLTR (авирулентность (av) к TcLr16, TcLr19, TcLr24, TcLr26), TCTTR (av: TcLr9, TcLr16, TcLr19, TcLr24), TBTTR (av: TcLr9, TcLr16, TcLr19, TcLr24, TcLr26) встречались во всех регионах. Фенотипы TQTTR (av: TcLr19, TcLr24, TcLr26) и TGTTR (av: TcLr9, TcLr19, TcLr24, TcLr26) были общими для омской и североказахстанской популяций, а THPTR (av: TcLr9, TcLr11, TcLr19, TcLr24) и TCTTQ (av: TcLr9, TcLr16, TcLr19, TcLr20, TcLr24) – для омской и челябинской. Определено высокое генетическое сходство омской популяции с североказахстанской и челябинской и умеренное между челябинской и североказахстанской популяциями. Распространенность возбудителя темно-бурной листовой пятнистости в Омской области была выше, чем в Челябинской. Из североказахстанских инфекционных образцов листьев *C. sativus* не выделен. Возбудитель желтой пятнистости обнаружен во всех изученных регионах. По признаку токсинообразования среди челябинских изолятов *P. tritici-repentis* выявлено пять рас (p1 (PtrToxA, PtrToxC); p2 (PtrToxA); p7 (PtrToxA, PtrToxB), p8 (PtrToxA, PtrToxB, PtrToxC); p4 (не образует токсины)); среди омских – три (p1, p2, p3); среди североказахстанских – четыре (p1,

Population structure of leaf pathogens of common spring wheat in the West Asian regions of Russia and Northern Kazakhstan in 2017

E.I. Gulyaeva¹✉, N.M. Kovalenko¹, V.P. Shamanin², V.A. Tyunin³, E.R. Shreyder³, E.L. Shaydayuk¹, A.I. Morgunov⁴

¹ All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Pushkin, Russia

² Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin, Omsk, Russia

³ Chelyabinsk Scientific Research Institute of Agriculture, Chelyabinsk region, Chebarkulsky district, Timiryazevsky, Russia

⁴ International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT), Ankara, Turkey

Wheat diseases affecting leaves like leaf rust (*Puccinia tritica*), tan spot (*Pyrenophora tritici-repentis*) and spot blotch (*Cochliobolus sativus* = *Bipolaris sorokiniana*) are widely spread and potentially dangerous in the West Asian region of Russia and Northern Kazakhstan. The study of the pathogens' populations is very important for genetic protection of wheat. The objective of this study was to investigate the population structure of the causative agent of leaf rust and tan spot on spring wheat and to estimate the distribution of the causative of spot blotch in the West Asian region of Russia and Northern Kazakhstan based on virulence traits. The source of inoculum were wheat leaves affected by leaf rust and spot diseases collected in Chelyabinsk and Omsk regions of Russia and in Northern Kazakhstan. Virulence analysis of *P. tritica* using 20 lines with known *Lr* genes demonstrated that all 109 mono-pustule isolates were avirulent to TcLr24. The isolates virulent to TcLr19 were identified only in the Chelyabinsk population. The frequency of isolates virulent to TcLr2a, TcLr2b, TcLr2c, TcLr11, TcLr15, TcLr16, TcLr20 and TcLr26 were higher in the Omsk and North Kazakhstan populations, while virulence to TcLr9, in Chelyabinsk. Using 20 TcLr-lines, we identified 27 virulence phenotypes of *P. tritica*: 12 in Omsk, 19 in the Chelyabinsk and 8 in the Kazakhstan populations. Phenotypes TLTR (avirulent to TcLr16, TcLr19, TcLr24, TcLr26), TCTTR (avirulent to TcLr9, TcLr16, TcLr19, TcLr24), TBTTR (avirulent to TcLr9, TcLr16, TcLr19, TcLr24, TcLr26) were observed in all populations. Phenotypes TQTTR (avirulent to TcLr19, TcLr24, TcLr26) and TGTTR (avirulent to TcLr9, TcLr19, TcLr24, TcLr26) were common for the Omsk and North Kazakhstan populations, while THPTR (avirulent to TcLr9, TcLr11, TcLr19, TcLr24) and TCTTQ (avirulent to TcLr9, TcLr16, TcLr19, TcLr20, TcLr24) were common for the Omsk and Chelyabinsk populations. There is a high genetic similarity in virulence and phenotypic composition between the Omsk and North Kazakhstan, Omsk and Chelyabinsk populations, and a



p2, p3, p4). 26 фенотипов *P. tritici-repentis* выявлено при анализе вирулентности на 11 сортах-дифференциаторах. Два из них были представлены во всех популяциях; два – в челябинской и североказахстанской; один – в омской и челябинской; остальные были оригинальными. Высокая степень сходства структуры популяций облигатного патогена *P. tritricina* и сапротрофного *P. tritici-repentis* в западно-азиатских областях Российской Федерации и Северном Казахстане указывает на единую эпидемиологическую зону. Наличие общих фенотипов патогенов свидетельствует о возможном генном потоке между изученными популяциями, что следует учитывать при размещении в этих регионах генетически защищенных сортов яровой пшеницы.

Ключевые слова: бурая ржавчина; желтая пятнистость; темно-бурая пятнистость; яровая пшеница; популяции; вирулентность; *Lr*-гены.

moderate similarity between the Chelyabinsk and North Kazakhstan populations. The occurrence of spot blotch was higher in the material collected from the Omsk region and it was not identified in North Kazakhstan material. The isolates of tan spot were identified in all regions. Five races of *P. tritici-repentis* were identified among Chelyabinsk isolates based on toxins produced by the pathogen: race 1 (PtrToxA PtrToxC); race 2 (PtrToxA); race 7 (PtrToxA, PtrToxB), race 8 (PtrToxA, PtrToxB, PtrToxC), and race 4 (does not produce toxins). There were 3 races identified in the Omsk region (1 – 3) in Northern Kazakhstan (1 – 4). In total, 26 phenotypes of *P. tritici-repentis* were identified based on virulence analysis using 11 lines-differentials: two were present in all populations; two, in Chelyabinsk and North Kazakhstan; one, in Omsk and Chelyabinsk, and all the others were original. A high degree of similarity between the obligate pathogen like *P. tritricina* and saprotrophic *P. tritici-repentis* in the West-Asian region of Russia and Northern Kazakhstan demonstrates that this is one epidemiological region across this wheat production area. The presence of common phenotypes indicates a possibility of gene exchange between the populations and this shall be considered while releasing genetically protected wheat varieties.

Key words: leaf rust; tan spot; spot blotch; spring wheat; populations; virulence; *Lr*-genes.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Гуляева Е.И., Коваленко Н.М., Шаманин В.П., Тюнин В.А., Шрейдер Е.Р., Шайдаюк Е.Л., Моргунов А.И. Структура популяций листовых патогенов яровой пшеницы в западноазиатских регионах России и Северном Казахстане в 2017 г. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(3):363-369. DOI 10.18699/VJ18.372

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Gulyaeva E.I., Kovalenko N.M., Shamanin V.P., Tyunin V.A., Shreyder E.R., Shaydayuk E.L., Morgunov A.I. Population structure of leaf pathogens of common spring wheat in the West Asian regions of Russia and Northern Kazakhstan in 2017. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(3):363-369. DOI 10.18699/VJ18.372 (in Russian)

Яровая пшеница – основная зерновая культура, выращиваемая на Урале, в Западной Сибири и Северном Казахстане. Поражение листовыми болезнями: бурой и стеблевой ржавчиной, септориозом, желтой и темно-бурой листовыми пятнистостями существенно лимитирует урожайность пшеницы в этих регионах (Койшибаев, 2010; Shamanin et al., 2016; Белан и др., 2017). Бурая ржавчина (возбудитель *Puccinia tritricina* Erikss.) встречается ежегодно с разной степенью развития – от умеренного до эпифитотийного. Заболевание проявляется в фазы флага-листа – колошения–цветения. Стеблевая ржавчина (возбудитель *Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* Erikss. et Henn.) развивается позднее и превалирует в период созревания зерна (Койшибаев, 2015). Наиболее значимым среди пятнистостей до недавнего времени считался септориоз, вызываемый видом *Parastagonospora nodorum* (Berk.) Quaedvl., Verkley & Crous (= *Septoria nodorum* Berk.) (Санина, Пахолкова, 2002; Койшибаев, 2015). В последнее десятилетие отмечается возрастание вредоносности желтой пятнистости (пиренофороза) (возбудитель *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechsler) (Михайлова и др., 2010, 2015; Койшибаев, 2015). В полевых условиях симптомы желтой пятнистости нелегко отделить от септориоза, и даже для специалистов это достаточно проблематично. Распространению желтой пятнистости способствует современная щадящая обработка почвы, при которой на ее поверхности остается большое количество растительных остатков, служащих средой для обитания зимующих псевдотециев *P. tritici-repentis* (Михайлова и др., 2010). Основным фактором патогенности *P. tritici-repentis* явля-

ются экзотоксины PtrToxA, PtrToxB, PtrToxC. На листьях чувствительных растений Ptr ToxA индуцирует образование некрозов, PtrToxB и PtrToxC – хлорозов (Lamari et al., 1998). Темно-бурая листовая пятнистость пшеницы (возбудитель *Cochliobolus sativus* (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur (= *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker) более значима во влажные и теплые годы (Кузнецова, 1987). Как правило, данные пятнистости появляются в период стеблевания пшеницы и встречаются в комплексе. Более интенсивное их развитие наблюдается в фазы колошения–налива зерна (Койшибаев, 2010).

Для обоснования стратегий генетической защиты пшеницы необходимы популяционные исследования фитопатогенов. Они позволяют охарактеризовать динамику расового состава патогенов, эффективность генов устойчивости у растений-хозяев и оценить влияние выращиваемых сортов пшеницы на изменчивость популяции гриба.

Возбудитель бурой ржавчины пшеницы относится к группе патогенов, наиболее изученных в популяционном аспекте. С использованием признака вирулентности и микросателлитных маркеров показано существование единой популяции *P. tritricina* на территории Западной Сибири, Урала и Казахстана (Михайлова, 2006; Kolmer, Ordoñez, 2007; Kolmer et al., 2015; Гуляева и др., 2017), что следует учитывать при размещении сортов с *Lr*-генами. Ежегодный мониторинг вирулентности популяций *P. tritricina*, проводимый в Челябинском научно-исследовательском институте сельского хозяйства и Омском государственном аграрном университете, позволяет отслеживать динамику

изменчивости возбудителя и корректировать селекционные программы.

Исследования популяций *P. tritici-repentis* в России впервые выполнены Л.А. Михайловой с коллегами (2010, 2015). На основании сведений о частоте вирулентности гриба к специально подобранным сортам пшеницы определено существование нескольких популяций *P. tritici-repentis* в России: северокавказской, северо-западной и западносибирской. Самостоятельный статус *P. tritici-repentis* из Омской области был также подтвержден с использованием микросателлитных маркеров (Мироненко и др., 2016).

О существовании дифференциальных взаимодействий между генотипами растения и изолятами патогена *C. sativus* имеются противоречивые сведения в литературе. Отсутствие сортов-дифференциаторов существенно лимитирует популяционные исследования возбудителя темно-бурой пятнистости по признаку вирулентности (Михайлова и др., 2002). Для оценки распространения этого патогена обычно используется микологический анализ, в результате которого оценивается частота встречаемости изолятов *C. sativus*.

Большинство популяционных исследований возбудителя бурой ржавчины и желтой пятнистости выполнены независимо. Представляло интерес провести комплексный анализ структуры патогенов, отличающихся по типу паразитирования (облигатный и гемибитрофный), с использованием сходного инфекционного материала, собранного в географически отдаленных регионах. Цель работы – характеристика структуры популяций возбудителей бурой ржавчины и желтой пятнистости яровой пшеницы по признакам вирулентности и оценка распространенности возбудителя темно-бурой пятнистости в западноазиатских регионах России и Северном Казахстане в 2017 г.

Материал и методы

Инфекционный материал, представленный пораженными бурой ржавчиной и пятнистостями листьями, собран на посевах пшеницы в Уральском (Челябинская область) и Западно-Сибирском (Омская область) регионах России и Северном Казахстане (Северо-Казахстанская и Акмолинская области) в 2017 г. Развитие бурой ржавчины в этих регионах варьировало от среднего до сильного, пятнистостей – от слабого до умеренного.

В Челябинской области листья собраны с 30 образцов яровой пшеницы, изучаемых на селекционном поле Челябинского НИИ сельского хозяйства; в Омской области – с 40 образцов пшеницы, выращиваемых на опытном поле Омского ГАУ, Черлакском и Павлоградском Государственных сортоучастках. В Казахстане материал собран на производственных посевах в семи точках Северо-Казахстанской области и двух – Акмолинской области.

Урединиоспоровый материал возбудителя бурой ржавчины с сухих листьев был реанимирован на восприимчивом сорте и клонирован. Размножение изолятов для анализа вирулентности проводили с помощью метода лабораторного культивирования гриба. В анализе вирулентности использовали 20 почти изогенных линий Thatcher с генами *Lr* (*TcLr*). По три зерна каждой *TcLr*-линии сеяли в почву. 10–14-дневные проростки (фаза первого листа)

инокулировали суспензией возбудителя (концентрация 10^6 спор/мл) и помещали в камеру искусственного климата (Sanyo, Versatile Environmental Test Chamber) при температуре 22 °C и влажности 75 % (Гульяева, Солодухина, 2008). Учет проводили на 10-й день после заражения по шкале Е.В. Mains и Н.С. Jackson (1926), где 0 – отсутствие симптомов; 0; – некрозы без пустул; 1 – очень мелкие пустулы, окруженные некрозом; 2 – пустулы среднего размера, окруженные некрозом или хлорозом; 3 – пустулы среднего размера без некроза; 4 – крупные пустулы без некроза; X – пустулы на одном и том же листе разных типов, присутствуют хлорозы и некрозы. Растения с типом реакции 0–2 относили к устойчивым, 3–4 и X – к восприимчивым.

Набор дифференциаторов, представленный 20 почти изогенными *TcLr*-линиями, использовали для изучения структуры популяций возбудителя бурой ржавчины. Для обозначения фенотипов вирулентности применяли североамериканскую номенклатуру (Long, Kolmer, 1989) и следующий порядок *TcLr*-линий: 1 – *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2c*, *Lr3a*; 2 – *Lr9*, *Lr16*, *Lr24*, *Lr26*; 3 – *Lr3ka*, *Lr11*, *Lr17*, *Lr30*; 4 – *Lr2b*, *Lr3bg*, *Lr14a*, *Lr14b*; 5 – *Lr15*, *Lr18*, *Lr19*, *Lr20*. Первые три группы соответствовали классическому набору (Long, Kolmer, 1989), широко используемому во всем мире при изучении популяций *P. triticina* (Kolmer, Ordoñez, 2007; Kolmer et al., 2015). В другие две группы включены *TcLr*-линии, актуальные для дифференциации российских популяций патогена (Гульяева и др., 2017). Буквенный код фенотипа, частоты вирулентности и индексы внутривидовой изменчивости (Hs) и Шеннона (Sh) определяли с помощью пакета программ Virulence Analysis Tool (VAT) (Kosman et al., 2008).

Для исследования возбудителей желтой и темно-бурой пятнистостей из пластинок листа вырезали сегменты, на которых располагались одно инфекционное пятно и прилегающий к нему участок зеленой ткани, и помещали на питательную среду V4 (Михайлова и др., 2012). В течение трех дней чашки инкубировали в термостате под УФ-лампами (ЛЭ-30) при температуре 20–22 °C и для стимуляции образования конидий *P. tritici-repentis* переносили в холодильник на одни сутки (температура 5–8 °C). Показатель частоты колоний грибов *P. tritici-repentis* и *C. sativus* в изученных географических популяциях применяли в качестве критерия распространения этих возбудителей.

Размножение культуры гриба *P. tritici-repentis* выполняли по методике Л.А. Михайловой с коллегами (2012). Анализ вирулентности проводили с помощью метода отрезков листьев, помещенных в раствор бензимидазола (0.004 %).

Расовую принадлежность, выявляемую по способности изолятов *P. tritici-repentis* к образованию токсинов Ptr ToxA, Ptr ToxB и Ptr ToxC, определяли с помощью инокуляции сорта Glenlea, линий 6B662 и 6B365 – по наличию некротических и хлоротических пятен на листьях пшеницы (Lamari, Bernier, 1989; Lamari et al., 1998).

Вирулентность изолятов *P. tritici-repentis* изучали с использованием набора сортов-дифференциаторов: Allies (Франция); Norin 58, Satsukei86, Hokkai 252, Komadi 3 (Япония); Riley 67, Clark (США); Asiago (Италия); Salamouni (Египет); M3 (Канада), отобранных по способ-

ности дифференцировать изоляты *P. tritici-repentis* по типу инфекции. Тип инфекции, вызываемый изолятами, оценивали по пятибалльной шкале, соответствующей величине некротических пятен и хлорозов, согласно работе Л.А. Михайловой с коллегами (2012). Сравнение образцов популяций по признаку вирулентности проводили по показателю среднего балла инфекции на изолятах (отношение сумм баллов, проявляемых изолятами на сортах-дифференциаторах, к числу изолятов). Для определения фенотипов использовали только показатель оценки некротической реакции, поскольку он характеризует результат воздействия одного (Ptr ToxA), а не двух токсинов, как в случае хлоротической реакции, когда проявляются два независимых признака, одинаковых по фенотипу (Михайлова и др., 2010). Результаты оценки вирулентности изолятов *P. tritici-repentis* представляли в виде бинарной матрицы: 1 – вирулентность (баллы 3–5), 0 – авирулентность (баллы 0–2).

Степень генетического сходства по признаку вирулентности между омскими, челябинскими и североказахстанскими популяциями *P. triticina* и *P. tritici-repentis* оценивали по индексам Нея (Nei genetic distance, Nei D) и Fst в пакете программ GenAlEx (Genetic analysis in Excel, 6.5 <http://biology.anu.edu.au/GenAlEx>).

Результаты и обсуждение

В популяционных исследованиях возбудителя бурой ржавчины изучено 109 монопустульных изолятов: 30 челябинских, 45 омских и 34 североказахстанских.

Анализ вирулентности на 20 линиях-дифференциаторах показал, что все изученные монопустульные изоляты были авирулентны к TcLr24. Изоляты, вирулентные к TcLr19, выявлены в челябинской популяции. Частоты вирулентных изолятов к TcLr2a, TcLr2b, TcLr2c, TcLr11, TcLr15, TcLr16, TcLr20 и TcLr26 были выше в омской и североказахстанской популяциях, а к TcLr9 – в челябинской (табл. 1). Высокая вирулентность к гену Lr9 в образцах челябинской популяции относительно других изученных популяций обусловлена широкой представленностью (10 %) в инфекционном материале сортов с этим геном (в омской – 3 %).

Высокая эффективность гена Lr24 в регионах Российской Федерации обусловлена отсутствием в районировании сортов с этим геном. Тем не менее в настоящее время доноры гена Lr24 используются в селекции в России (Тюнин и др., 2017). Мировая практика выращивания сортов с геном Lr24 показывает, что при массовом их возделывании достаточно быстро появляются вирулентные расы и ген теряет свою эффективность. Вирулентность к Lr24 встречается в популяциях *P. triticina* на Североамериканском континенте и в Австралии, где широко выращиваются сорта пшеницы, защищенные данным геном (McIntosh et al., 1995).

Изоляты, вирулентные к гену Lr19, отмечены только в челябинской популяции и выделены с линии, защищенной данным геном. При этом они не выявлены на образцах пшеницы, несущих сочетание генов Lr19 и Lr26, например на сортах Омская 37 и Омская 38. Вирулентность к гену Lr19 чаще отмечается в Поволжье, где массово возделываются сорта с этим геном, но может

встречаться и в других регионах (Коваленко и др., 2012; Тюнин и др., 2017). Все проанализированные изоляты *P. triticina*, вирулентные к TcLr19, были авирулентны к TcLr26. Аналогичную картину наблюдали для изолятов, вирулентных к TcLr9. Увеличение в районировании числа сортов пшеницы с геном Lr9, которые служат мощными накопителями инфекции, обуславливает динамику роста частот изолятов, вирулентных к гену Lr9, в западноазиатских регионах России (Мешкова и др., 2012; Тюнин и др., 2017). Для стабилизации фитосанитарной ситуации в Уральском и Западно-Сибирском регионах может быть предложена стратегия пирамидирования генов Lr9 и Lr19 с Lr26 и другими Lr-генами, эффективное сочетание которых будет способствовать продлению срока «полезной жизни» новых сортов.

С использованием 20 TcLr-линий определено 27 фенотипов вирулентности (12 в омской, 19 в челябинской и 8 в казахстанской популяциях) (табл. 2). Фенотипы TLTr, TCTTr и TBTTr встречались во всех изученных популяциях. Фенотипы TQTTr и TGTTr были общими в омской и североказахстанской популяциях, а THPr и TCTTQ – в омской и челябинской. Высокая степень сходства по фенотипам вирулентности свидетельствует о наличии генного потока между популяциями патогена на изученной территории в 2017 г. В целом не выявлено существенного изменения в фенотипическом составе омских и челябинских популяций в 2017 г. по сравнению с периодом 2014–2016 гг. (Тюнин и др., 2017).

Анализ омской и челябинской популяций *P. triticina* на одинаковых образцах яровой пшеницы показал их идентичность по вирулентности на восприимчивых сортах Памяти Азиева, Омская 35, Саратовская 29 и линии Лютеценс 857. Существенные различия по вирулентности между этими популяциями наблюдали на образцах пшеницы: Лютеценс 1103 (на линиях с генами Lr2a, Lr2b, Lr2c, Lr15, Lr16), Лютеценс KS14/09-2 (Lr2a, Lr2b, Lr2c, Lr11, Lr15, Lr20), Дуэт (Lr2a, Lr2b, Lr2c, Lr11, Lr15, Lr16, Lr20) и умеренные на образцах: Новосибирская 16, Лютеценс 37-17, Эритроспермум 1119 (Lr16), Столыпина 2, ГВК 2127 (Lr16, Lr20), ОмГАУ 100 (Lr11), Тюменочка (Lr11, Lr20) и Элемент 22 (Lr11, Lr16).

Индексы Нея (N_s) и Шеннона (Sh), характеризующие внутривидовое генетическое разнообразие, показали, что челябинская популяция была более гетерогенная по вирулентности ($N_s = 0.21$) и фенотипическому составу (Sh = 0.82) по сравнению с омской и североказахстанской ($N_s = 0.09$ и 0.06 ; Sh = 0.51 и 0.49 соответственно).

Индекс генетических расстояний Нея (N) указывал на высокое сходство омской популяции с североказахстанской (N = 0.03) и челябинской (N = 0.05) и умеренное между челябинской и североказахстанской (N = 0.13). Полученные в 2017 г. сведения не выявили изменений в структуре изученных популяций по сравнению с предыдущим периодом (Коваленко и др., 2012; Гультяева и др., 2017; Тюнин и др., 2017).

Для популяционных исследований *P. tritici-repentis* и *C. sativus* использовали листья пшеницы с характерными визуальными симптомами изучаемых болезней. В Челябинской области инфекционным материалом служили девять сортов пшеницы: Уральская кукушка, Челябинская

Таблица 1. Частоты изолятов, вирулентных к линиям Thatcher, в челябинской, омской и североказахстанской популяциях *P. tritici* в 2017 г. (%)

Тестерная линия	Популяция <i>P. tritici</i>		
	омская	челябинская	североказахстанская
RL6064 TcLr24	0	0	0
RL6016 TcLr2a	95 ± 0.03	60 ± 0.09	100
RL6019 TcLr2b	95 ± 0.03	70 ± 0.08	100
RL6047 TcLr2c	95 ± 0.03	70 ± 0.08	100
RL6010 TcLr9	10 ± 0.05	43.3 ± 0.09	14.7 ± 0.06
RL6053 TcLr11	80 ± 0.06	70 ± 0.08	100
RL6052 TcLr15	95 ± 0.03	60 ± 0.09	100
RL6005 TcLr16	72.5 ± 0.07	43.3 ± 0.09	67.6 ± 0.08
RL6040 TcLr19	0	3.3 ± 0.03	0
RL6092 TcLr20	92.5 ± 0.04	53.3 ± 0.09	100
RL6078 TcLr26	80 ± 0.06	50 ± 0.09	55.9 ± 0.08
RL6003 TcLr1, RL6002 TcLr3a, RL6042 TcLr3bg, RL6007 TcLr3ka, RL6013 TcLr14a, RL6006 TcLr14b, RL6008 TcLr17, RL6009 TcLr18, RL6049 TcLr30	100	100	100

Таблица 2. Фенотипический состав *P. tritici* в западноазиатских областях России и Северном Казахстане в 2017 г. (%)

Фенотип	Авирулентность к TcLr-линиям	Популяция <i>P. tritici</i>		
		омская	челябинская	североказахстанская
TRTTR	19, 24	0	0	2.9
TRPTR	11, 19, 24	2.5	0	0
TQTTR	19, 24, 26	2.5	0	5.9
TQTQ	19, 20, 24, 26	0	3.3	0
TMTTR	16, 19, 24	0	0	2.9
TLTTR	16, 19, 24, 26	2.5	10	2.9
TLPTQ	11, 16, 19, 20, 24, 26	2.5	0	0
THTTR	9, 19, 24	45	10	35.3
THTTQ	9, 19, 20, 24	0	10	0
THPTR	9, 11, 19, 24	12.5	3.3	0
THPTQ	9, 11, 19, 20, 24	0	3.3	0
TGTTR	9, 19, 24, 26	5	0	23.5
TCTTR	9, 16, 19, 24	12.5	13.3	14.7
TCTQ	9, 16, 19, 20, 24	5	3.3	0
TBTTR	9, 16, 19, 24, 26	5	3.3	11.8
PLPTG	2a, 11, 15, 16, 19, 20, 24, 26	0	3.3	0
PHPTG	2a, 9, 11, 15, 19, 20, 24	0	3.3	0
PCPTG	2a, 9, 11, 15, 16, 19, 20, 24	0	3.3	0
MQTKG	2a, 2b, 2c, 15, 19, 20, 24, 26	0	3.3	0
MQPKH	2a, 2b, 2c, 11, 15, 19, 24, 26	0	3.3	0
MQPKG	2a, 2b, 2c, 11, 15, 19, 20, 24, 26	0	3.3	0
MLTKH	2a, 2b, 2c, 15, 16, 19, 24, 26	0	6.7	0
MLTKG	2a, 2b, 2c, 15, 16, 19, 20, 24, 26	0	3.3	0
MLPKG	2a, 2b, 2c, 11, 15, 16, 19, 20, 24, 26	0	6.7	0
MHPKH	2a, 2b, 2c, 9, 11, 15, 19, 24	2.5	0	0
MGTKH	2a, 2b, 2c, 9, 15, 19, 24, 26	2.5	0	0
MBTKK	2a, 2b, 2c, 9, 15, 16, 24, 26	0	3.3	0

Таблица 3. Расы *P. tritici-repentis*, идентифицированные по признаку токсинообразования в западноазиатских областях России и Северном Казахстане в 2017 г. (%)

Раса	Токсин	Популяция <i>P. tritici-repentis</i>		
		омская	челябинская	североказахстанская
1	PtrToxA, PtrToxC	50	26	48
2	PtrToxA	37	53	26
3	PtrToxC	13	0	11
4	Не образует токсины	0	5	15
7	PtrToxA, PtrToxB	0	5	0
8	PtrToxA, PtrToxB, PtrToxC	0	11	0

ная, Эритроспермум 59, Искра, Россиянка, Изумрудная, Астана 2, Тюменочка, Терция; в Омской области – 8: Памяти Азиева, Сibaковская юбилейная, ОмГАУ 90, Черныява 13, Уралосибирская, Дуэт, Грани и Катюша. В образцах листьев из Северо-Казахстанской области пятнистости отмечены в шести пробах.

Всего изучено 466 инфекционных проб (сегменты листьев с отдельными пятнами): 125 омских, 215 челябинских, 126 североказахстанских. Встречаемость изолятов *C. sativus* в омских образцах инфекции составляла 12 %; *P. tritici-repentis* 14 %; в челябинских 3 и 25 %; в североказахстанских 0 и 43 % соответственно. Таким образом, представленность возбудителя темно-бурой пятнистости в Омской области была выше, чем в Челябинской. В североказахстанских образцах листьев *C. sativus* не наблюдали. Возбудитель *P. tritici-repentis* отмечен во всех регионах. Частота изолятов *P. tritici-repentis* была выше в североказахстанских и челябинских образцах инфекции и ниже в омских.

Для анализа структуры по признаку вирулентности и токсинообразованию было использовано 19 челябинских, 8 омских и 27 североказахстанских изолятов *P. tritici-repentis*. Расы *P. tritici-repentis*, идентифицированные в трех изученных популяциях по признаку токсинообразования, представлены в табл. 3. В образцах челябинской популяции выявлено 5 рас, омской – 3, североказахстанской – 4.

Расовый состав омских изолятов *P. tritici-repentis* в 2017 г. характеризовался более высоким разнообразием по сравнению с 2007 г., когда было обнаружено две расы: 2 и 7 (Михайлова и др., 2010). Расы 1–4 *P. tritici-repentis*, доминирующие в изученных популяциях, относятся к группе широко распространенных также и в других российских регионах (центрально-европейских и северокавказских) (Михайлова и др., 2010, 2012).

В целом отмечена высокая встречаемость изолятов, образующих PtrToxA (87–95 %) (см. табл. 3), что указывает на потенциальную вредоносность желтой пятнистости на территории Западно-Сибирского и Уральского регионов России и Северного Казахстана.

При анализе вирулентности на 11 сортах-дифференциаторах (по признаку некроза) выявлено 26 фенотипов *P. tritici-repentis*. Два из них встречались во все регионах, два были общими для челябинской и североказахстанской популяций, один – для омской и челябинской. 47 % челябинских и 33 % североказахстанских изолятов представлены уникальными фенотипами. Наличие общих

фенотипов в изученных популяциях указывает на возможный генный поток. Считается, что микроэволюционные изменения в популяциях возбудителя желтой пятнистости пшеницы при заселении новых территорий происходят в направлении расширения генетического разнообразия и усиления вирулентности по сравнению с популяциями, обитающими на освоенных территориях (Михайлова и др., 2010). При изучении выборок изолятов по вирулентности к 11 сортам пшеницы набора дифференциаторов определено, что во всех коллекциях значения среднего типа инфекции были близкими (челябинские 1.69 (некроз)–1.71 (хлороз); омские 1.47–1.84; 1.71–1.55).

Значения индексов генетических расстояний F_{st} и F_{st} между челябинскими, омскими и североказахстанскими изолятами *P. tritici-repentis* по признаку вирулентности указывали на высокое сходство между ними ($N = 0.02–0.05$; $F_{st} = 0.03–0.12$). Это свидетельствует о наличии общей эпифитотийной зоны *P. tritici-repentis* на изученной территории.

Популяционный анализ потенциально опасных патогенов пшеницы *P. tritici-repentis* и *P. tritici-repentis*, различающихся по типу паразитирования (облигатный и гемиботрофный), выявил сходство их структуры в западноазиатских регионах Российской Федерации и Северном Казахстане. Полученные сведения следует учитывать при территориальном размещении генетически защищенных сортов в этих регионах. Изучение новых сортов должно проводиться с учетом их устойчивости не только к местным популяциям патогена, преобладающим в определенном регионе, но и к тем расам, которые могут появиться в популяции вследствие возможного воздушного заноса из соседних регионов. Такая система изучения сортов используется в программах сотрудничества Казахстанско-Сибирской сети по улучшению яровой пшеницы (КАСИБ). Лучший селекционный материал ежегодно испытывается в различных экологических условиях (Поволжье, Урал, Западная Сибирь и Казахстан). Мониторинг вирулентности патогенов позволяет скоординировать стратегии размещения новых сортов в изученных регионах, увеличить сроки их «полезной жизни» и улучшить экологическую обстановку на посевах пшеницы.

Благодарности

Все популяционные исследования возбудителя бурой ржавчины проведены в рамках Государственного задания ФАНО России (проект № 0665-2018-0002). Анализ воз-

будителей желтой и темно-бурой пятнистостей выполнен в рамках проекта РФФИ № 18-04-00128. Сбор инфекционных образцов пшеницы и фитопатологические оценки в Омской области проведены при финансовой поддержке РНФ (проект № 16-16-10005).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Белан И.А., Россеева Л.П., Мешкова Л.В., Блохина Н.П., Першина Л.А., Трубочеева Н.В. Создание сортов мягкой пшеницы, устойчивых к грибным заболеваниям, для условий Западной Сибири и Урала. Вестн. Алт. гос. аграр. ун-та. 2017;1(147):5-14.
- Гуляева Е.И., Аристов М.К., Шайдаюк Е.Л., Мироненко Н.В., Казарцев И.А., Ахметова А., Косман Е. Генетическая дифференциация *Puccinia triticina* Erikss. на территории России. Генетика. 2017;53(9):1053-1060. DOI 10.7868/S0016675817070037.
- Гуляева Е.И., Солодухина О.В. Ржавчинные болезни зерновых культур. Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам. М., 2008;5-31.
- Коваленко Е.Д., Жемчужина А.И., Киселева М.И., Коломиец Т.М., Лапочкина И.Ф., Худокормова Ж.Н., Боккельман Х. Современное состояние популяций возбудителя бурой ржавчины и создание генбанка источников и доноров устойчивости пшеницы. Иммуногенетическая защита сельскохозяйственных культур от болезней: теория и практика. Матер. Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 125-летию со дня рождения Н.И. Вавилова. Большие Вяземы, Московская обл. 17-20 июля. 2012;69-80.
- Койшибаев М. Распространение и развитие желтой пятнистости пшеницы в Казахстане. Микология и фитопатология. 2010;45(2):177-186.
- Койшибаев М. Динамика развития видов ржавчины и септориоза и защита пшеницы от них. Защита и карантин растений. 2015;9:21-25.
- Кузнецова Т.Т. Видовой состав болезней зерновых культур в Западной Сибири. Науч.-техн. бюл. ВАСХНИЛ Сиб. отд-ние. СибНИИЗХим. 1987;2:50-52.
- Мешкова Л.В., Россеева Л.П., Коренюк Е.А., Белан И.А. Динамика распространения патотипа возбудителя бурой ржавчины пшеницы, вирулентного к сортам с геном *Lr9* в Омской области. Микология и фитопатология. 2012;46(6):397-400.
- Мироненко Н.В., Баранова О.А., Коваленко Н.М., Михайлова Л.А., Россеева Л.П. Генетическая структура популяций *Pyrenophora tritici-repentis* по микросателлитным маркерам на территории России. Генетика. 2016;52(8):885-895.
- Михайлова Л.А. Генетика взаимоотношений возбудителя бурой ржавчины и пшеницы. Под ред. акад. РАСХН М.М. Левитина. СПб.: ВИЗР, 2006.
- Михайлова Л.А., Гоголева С.Г., Гуляева Е.И. Взаимодействие штаммов *Bipolaris sorokiniana* и образцов пшеницы. Микология и фитопатология. 2002;36(2):63-66.
- Михайлова Л.А., Коваленко Н.М., Мироненко Н.В., Россеева Л.П. Популяции *Pyrenophora tritici-repentis* на территории России. Микология и фитопатология. 2015;49(4):257-261.
- Михайлова Л.А., Мироненко Н.В., Коваленко Н.М. Желтая пятнистость пшеницы. Методические указания по изучению популяций возбудителя желтой пятнистости *Pyrenophora tritici-repentis* и устойчивости сортов. СПб.: ВИЗР, 2012.
- Михайлова Л.А., Тернюк И.Г., Мироненко Н.В. Характеристика популяций *Pyrenophora tritici-repentis* по признаку вирулентности. Микология и фитопатология. 2010;44(3):263-272.
- Санина А.А., Пахолкова Е.В. Видовая структура возбудителей септориоза пшеницы в различных регионах России. Современная микология в России. Первый съезд микологов в России. Москва, 11-13 апреля 2002 г. Сб. трудов 1-го съезда микологов России, М., 2002;(Разд. 7);221.
- Тюнин В.А., Шрейдер Е.Р., Гуляева Е.И., Шайдаюк Е.Л. Характеристика вирулентности популяций *Puccinia triticina* и перспективы использования генов *Lr24*, *Lr25*, *LrSp* в селекции яровой мягкой пшеницы на Южном Урале. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(5):523-529. DOI 10.18699/VJ17.269.
- Kolmer J.A., K Abdulova M.G., Mustafina M.A., Zhemchuzhina N.S., Dubovoy V. Russian populations of *Puccinia triticina* in distant regions are not differentiated for virulence and molecular genotype. Plant Pathol. 2015;64(2):328-336. DOI 0.1111/ppa.12248.
- Kolmer J.A., Ordoñez M.E. Genetic differentiation of *Puccinia triticina* populations in Central Asia and the Caucasus. Phytopathology. 2007;97:1141-1149. DOI 10.1094/PHYTO-97-9-1141.
- Kosman E., Dinoor A., Herrmann A., Schachtel G.A. Virulence Analysis Tool (VAT). User Manual. 2008. <http://www.tau.ac.il/lifesci/departments/plants/members/kosman/VAT.html>
- Lamari L., Bernier C.C. Toxin of *Pyrenophora tritici-repentis*: host-specificity, significance in disease, and inheritance of host-reaction. Phytopathology. 1989;79:740-744. DOI 10.1094/Phyto-79-740.
- Lamari L., Gilbert J., Tekauz A. Race differentiation in *Pyrenophora tritici-repentis* and survey of physiologic variation in western Canada. Can. J. Plant Pathol. 1998;20:396-400. DOI 10.1080/07060669809500410.
- Long D.L., Kolmer J.A. North American system of nomenclature for *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. Phytopathology. 1989;79:525-529.
- Mains E.B., Jackson H.S. Physiologic specialization in the leaf rust of wheat; *Puccinia triticina* Erikss. Phytopathology. 1926;16:89-120.
- McIntosh R.A., Wellings C., Park R.F. Wheat Rusts: an Atlas of Resistance Genes. London: Kluwer Academic Publishers, 1995.
- Shamanin V., Salina E., Wanyera R., Zelenskiy Y., Olivera P., Morgounov A. Genetic diversity of spring wheat from Kazakhstan and Russia for resistance to stem rust Ug99. Euphytica. 2016;212(2):287-296. DOI 10.1007/s10681-016-1769-0.

Алкалогалофильные бактерии семейства Bacillaceae в озерах пустыни Бадаин Жаран (Китай)

Е.Б. Эрдынеева¹✉, А.А. Раднагуруева¹, Н.Л. Белькова², З.Б. Намсараев³, Е.В. Лаврентьева^{1, 4}

¹ Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения Российской академии наук, Улан-Удэ, Россия

² Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия

³ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

⁴ Бурятский государственный университет, Улан-Удэ, Россия

На территории пустыни Бадаин Жаран (Алашаньское нагорье, западная часть Внутренней Монголии – Китай) расположены многочисленные малоизученные содовые и соленые озера. Исследованные содово-соленые озера характеризуются высокими значениями pH (больше 9) и минерализации (до 400 г/л), что создает условия для развития алкалогалофильного микробного сообщества. Целью настоящей работы было выделение и изучение чистых культур алкалогалофильных микроорганизмов в озерах пустыни Бадаин Жаран. Из накопительных культур корковой соли и микробных матов трех озер были выделены и описаны чистые культуры микроорганизмов, принадлежащих к семейству Bacillaceae (филум Firmicutes). С помощью биохимических методов определены эколого-физиологические свойства бактерий. Изоляты проявляют свойства алкалофилов и облигатных алкалофилов, развиваются при уровне pH от 7 до 10.5 (оптимум pH 9–10). По отношению к концентрации NaCl штаммы проявили свойства облигатных и экстремальных галофилов. По отношению к температуре выделенные микроорганизмы представляют собой мезофилы с диапазоном роста от 10 до 50 °C (оптимальный рост в пределах 30–40 °C). В отношении используемых субстратов выделенные культуры отличаются широкой метаболической активностью и, предположительно, в естественных условиях местообитания являются активными деструкторами органического вещества. Для изучения гидрохимических показателей воды применяли атомно-эмиссионную спектрометрию с индуктивно связанной плазмой, ионную хроматографию и капиллярный электрофорез. В результате исследований обнаружено: по многокомпонентному составу в содово-соленых озерах пустыни Бадаин Жаран доминируют катион натрия и анионы карбоната, бикарбоната хлора и сульфата. Полученные результаты расширяют представления о разнообразии и экологическом значении бактерий в экстремальных природных экосистемах пустыни Бадаин Жаран. Выделенные штаммы представляют интерес для биотехнологии как продуценты ферментов, устойчивых к высоким значениям pH и минерализации.

Ключевые слова: содово-соленые озера; пустыня Бадаин Жаран; физиолого-биохимические свойства бактерий; семейство Bacillaceae.

Alkalohalophilic bacteria of the family Bacillaceae in the lakes of the Badain Jaran desert (China)

E.B. Erdyneeva¹✉, A.A. Radnagurueva¹, N.L. Belkova², Z.B. Namsaraev³, E.V. Lavrentieva^{1, 4}

¹ Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude, Russia

² Limnological Institute SB RAS, Irkutsk, Russia

³ National Research Center “Kurchatov Institute”, Moscow, Russia

⁴ Buryat State University, Ulan-Ude, Russia

The Badain Jaran desert is located in the western part of Inner Mongolia (China) in the Alashan Highland. The investigated soda-salt lakes combine high pH (more than 9) and mineralization (up to 400 g/dm³), where conditions for the development of an alkali-halophilic microbial community are created. The purpose of our work was to isolate and study pure alkali-halophilic microorganisms in the lakes of the Badain Jaran desert. From the accumulative cultures of the cortex salt and the microbial mats of the lakes of the Badain Jaran desert, pure cultures belonging to the family Bacillaceae (the phylum Firmicutes) were isolated and described. With the help of biochemical methods, the ecological and physiological properties of the isolated bacteria were determined. The isolated bacteria exhibit the properties of alkalophiles and obligate alkalophiles and develop at pH 7–10.5, the optima ranging from 9 to 10. With respect to the concentration of NaCl, the strains showed the properties of obligate halophiles and extreme halophiles. With respect to temperature, the isolated microorganisms are mesophiles growing at 10–50 °C, the optimal growth being at 30–40 °C. With respect to the substrates used, the isolated cultures are noted for extensive metabolic activity and, when in their natural habitats, are supposedly active participants of the destruction of organic matter. To study the hydrochemical indicators of water, the following methods were used: atomic emission spectrometry with inductively coupled plasma, ion chromatography and capillary electrophoresis. As a result, it was found that a sodium cation and anions of carbonate, bicarbonate of chlorine and sulphate dominate in the soda-salt lakes of the Badain Jaran desert in a multicomponent composition. The results obtained broaden the notion of the diversity and ecological significance of bacteria in the extreme natural

ecosystems of the Badain Jaran desert. The isolated strains are of interest for biotechnology as producers of enzymes resistant to high pH and mineralization.

Key words: soda-salt lakes; Badain Jaran desert; physiological and biochemical properties of bacteria; family Bacillaceae.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Эрдынеева Е.Б., Раднагуруева А.А., Белькова Н.Л., Намсараев З.Б., Лаврентьева Е.В. Алкалогалофильные бактерии семейства Bacillaceae в озерах пустыни Бадаин Жаран (Китай). Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(3):370-378. DOI 10.18699/VJ18.373

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Erdyneeva E.B., Radnagurueva A.A., Belkova N.L., Namsaraev Z.B., Lavrentieva E.V. Alkalohalophilic bacteria of the family Bacillaceae in the lakes of the Badain Jaran desert (China). Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(3):370-378. DOI 10.18699/VJ18.373 (in Russian)

Пустыня Бадаин Жаран находится в западной части Внутренней Монголии (Китай) на территории Алашаньского нагорья. На площади 49000 км² расположено более ста малоизученных содовых и соленых озер, различающихся по минерализации, pH и химическому составу (Dong et al., 2013). В этих экстремальных экосистемах развиваются алкалогалофильные микробные сообщества, которые являются объектом интенсивных исследований, не теряющих своей актуальности в течение последних десятилетий. Это связано с выяснением роли микроорганизмов в функционировании данных экстремальных мест обитания и открытием новых видов алкало- и галофильных представителей микробного сообщества (Zhilina et al., 2001; Sorokin et al., 2004; Marteinsson et al., 2010; Casamayor, 2013; Park et al., 2013; Glaring et al., 2015; Kumar et al., 2015).

Деструкционная часть микробного сообщества в содово-соленых озерах состоит из сложных консорциумов алкалогалофилов разных систематических групп, представленных как аэробными, так и анаэробными формами. На первых этапах деструкции первостепенную роль выполняют гидролитики – микроорганизмы, разлагающие полимеры и в состав которых входят сахаролитики, липолитики, амилолитики и протеолитики (Болтянская, 2007).

В ряде исследований показано, что аэробные и факультативно анаэробные гетеротрофные представители семейства Bacillaceae являются активным компонентом деструкционной части в экосистемах содово-соленых озер, благодаря их способности к образованию устойчивых эндоспор и высокому функциональному и генетическому разнообразию. Считается, что названные характеристики служат ключевым фактором и определяют экологию этих бактерий (Boutaiba et al., 2011; Mwirichia et al., 2011; Glaring et al., 2015; Mandic-Mulec et al., 2015; Bryanskaya et al., 2016).

Выделенные микроорганизмы семейства Bacillaceae из экстремальных мест обитаний производят широкий спектр внеклеточных гидролитических ферментов, которые могут иметь хозяйственное значение, например использоваться в кожевенном производстве (обезволаживание шкур, смягчение кожи), в качестве детергента (удаление белковых загрязнений), в пищевой промышленности (получение белкового гидролизата, мягчение мяса и рыбы) и в сельском хозяйстве в качестве кормовой добавки (Gupta et al., 2002; Mandic-Mulec et al., 2015). Тем не менее гидролитические микроорганизмы соленых озер

пустыни Бадаин Жаран до настоящего времени остаются слабоизученной группой.

Целью данной работы были поиск и выделение гидролитических бактерий семейства Bacillaceae из природных образцов озер пустыни Бадаин Жаран, определение их филогенетического родства и изучение эколого-физиологических свойств выделенных чистых культур бактерий.

Материалы и методы

Пустыня Бадаин Жаран (N 39°20'–41°30', E 99°48'–104°14') расположена в северо-западной части Алашаньского нагорья Внутренней Монголии (Китай) на высоте более 1000 м над уровнем моря (рис. 1). Высота дюн обычно составляет около 200–300 м. На территории пустыни находится более ста озер, не имеющих поверхностных притоков и выходов (Dong et al., 2013). GPS-координаты мест отбора образцов представлены в табл. 1.

Из трех содово-соленых озер (Yindeertu, Sumujilin, Yihet east) в августе 2013 г. были взяты пробы микробных матов, расположенных под водой на глубине 0.2–0.5 м (рис. 2). Высота микробного мата достигала 3–4 см. Также с поверхности лагуны Yindeertu была отобрана солевая корка (см. рис. 2). Образцы хранили в стерильных 50 мл пробирках при температуре +4 °C.

В местах отбора проб определяли pH воды при помощи полевого pH-метра HANNA HI83141 (Португалия). Значение общей минерализации определяли портативным тестер-кондуктометром TDS-4 HM Digital (Сингапур). Для изучения катионного и ионного состава воды применяли атомно-эмиссионную спектроскопию с индуктивно связанной плазмой, ионную хроматографию и капиллярный электрофорез (работа выполнена в аналитической лаборатории Института неорганической химии СО РАН, г. Новосибирск).

Выделение микроорганизмов из содово-соленых озер. Для получения активных накопительных культур алкалогалофильных микроорганизмов проводили посев на модифицированную среду Пфеннига следующего состава (г/л): NH₄Cl – 0.5, KН₂PO₄ – 0.5, MgCl₂ – 0.5, CaCl₂ – 0.05, NaCl – 250, дрожжевой экстракт – 0.5. В качестве субстрата использовали пептон 5 г/л. Значение pH среды довели бикарбонатно-карбонатным буфером до 8.5–9.5. Посевы осуществляли методом предельных разведений (1:10) аэробно, в термостате, при температуре 30 °C, время инкубации 3 сут. Для выделения чистой культуры из отдельной колонии накопительную культуру высевали

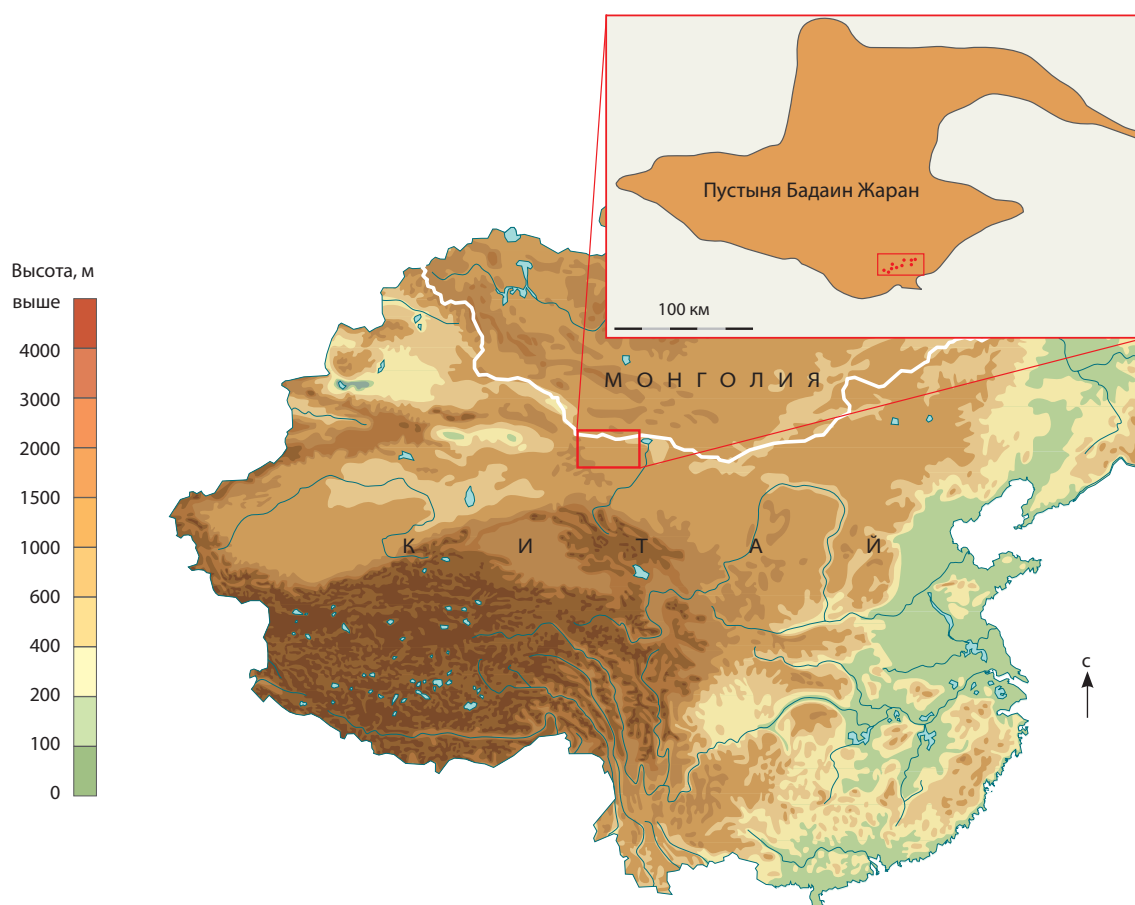


Рис. 1. Географическое расположение пустыни Бадаин Жаран.

Таблица 1. Географические координаты станций отбора и физико-химические параметры образцов

Станция, образец	Геогр. координаты, с.ш., в.д.	Минерализация, г/л	pH	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	F ⁻	Br ⁻	HCO ₃ ⁻	CO ₃ ²⁻	Ca ²⁺	Na ⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Сумма ионов (Na ⁺ , Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻ , HCO ₃ ⁻ , CO ₃ ²⁻)
Содержание, г/л														
Vj-05 Yindeertu (лагуна), солевая корка	39°51.557', 102°27.090'	410	9.23	154.0	57.2	0.10	0.12	64.0	31.2	0.01	120	0.02	29.2	426.4
Vj-06 Yindeertu, микробный мат	39°51.321', 102°26.992'	243	9.71	68.5	22.5	0.07	0.04	78.9	42.6	0.01	46	0.10	13.7	258.5
Vj-07 Sumujilin, микробный мат	39°48.376', 102°25.734'	197	9.83	40.3	22.8	0.11	0.03	62.3	34.8	0.01	50	0.013	7.5	210.2
Vj-10 Yiher east, микробный мат	39°43.215', 102°19.514'	220	9.65	64.7	13.0	0.14	0.05	56.7	28.8	0.01	59	0.14	10.0	222.2

поверхностным способом в стерильные чашки Петри на расплавленную агаризованную питательную среду. Изолированные колонии бактерий пересеивали вновь на агаризованную среду. Чистоту культур контролировали микроскопированием по однородности клеток.

Морфологию, размеры, подвижность клеток изучали с помощью светового микроскопа AxioStar Plus (Karl Zeiss) в фазовом контрасте и на окрашенных препаратах при рабочем увеличении в 1000 раз. Готовились препараты

живых и окрашенных клеток. Окрашивание проводилось по Граму.

Идентификация штаммов по нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК. Для проведения полимеразной цепной реакции и дальнейшего секвенирования ПЦР-фрагментов гена 16S рРНК клеток чистых культур использовали универсальную систему праймеров (Fadrosh et al., 2014). Амплификационная смесь объемом 30 мкл имела следующий состав: 5x Taq Red buffer, Taq-

полимераза (Evrogen, Россия), 5 мкл каждого праймера (концентрация 6 мкМ), 5 мкл ДНК-матрицы и 15 мкл ПЦР-смеси (1 U-полимераза, 0.2 mM каждого dNTP, 2.5 mM Mg^{2+}). Каждый образец амплифицировали в двух повторностях. Затем репликации каждого образца объединяли в один объем и запускали на 2 % стандартном агарозном геле для визуализации и выбора размера. Для экстракции ампликонов из агарозного геля применяли стандартный набор для удаления очищающего геля (Evrogen, Россия). Концентрацию ДНК измеряли флуорометром Qubit® 2.0 с набором для анализа dsDNA HS (High Sensitivity) (Life Technologies, США).

Секвенирование осуществляли в ООО «Биоспарк» (г. Москва). Полученные последовательности сравнивали с хранящимися в мировой базе NCBI данными сервера BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). Выравнивание полученных последовательностей гена 16S рПНК проводили с помощью программы ClustalW. Построение филогенетического дерева выполнено методом ближайших соседей Neighbor-Joining Tree в программе MEGA6 (Tamura et al., 2013). Значения Bootstrap на основе 1000 повторений перечислены в процентах в точках разветвления Bar 0.01 нуклеотидных замен на нуклеотидную позицию.

Изучение эколого-физиологических свойств гидролитических бактерий. Температурные диапазоны развития бактерий устанавливали в градиентном термостате от 20 до 60 °C и в холодильнике от 5 до 10 °C. Диапазон pH (от 6.0 до 11.0) устанавливали 0.5 M NaOH и 25 % раствором HCl. Способность к потреблению различных источников питания проверяли на минеральной среде, в которую вносили испытуемые источники углеводов и белка в концентрации 2 % от объема среды. Биомассу бактерий определяли по изменению оптической плотности культуры при длине волны 560 нм. Биохимические свойства бактерий, удельную скорость роста находили общепринятыми методами (Нетрусов, 2005).

Результаты

В пустыне Бадаин Жаран резко континентальный сухой климат. Количество осадков составляет 120 мм/год, испарение – более 2500 мм (Hofmann, 1996; Yang et al., 2010). В результате образуются мелководные озера с высоким значением pH (больше 9) и минерализацией воды до 500 г/л, где доминируют катионы натрия и анионы карбоната, бикарбоната, хлора и сульфата. В связи с этим развитие высших форм растений и животных ограничено и создаются условия для распространения алкалогалофильного микробного сообщества (Заварзин, Жилина, 2000; Li et al., 2015).

На момент отбора проб значение pH составляло 9.2–9.8, минерализация достигала 200–240 г/л, кроме станции Bj-05 Yindeertu (лагуна), где обнаружена солёность 410 г/л. Температура воды в озерах была равна 21–22 °C. Географические координаты станций отбора и физико-химические и гидрохимические параметры воды приведены в табл. 1.

Щелочность и солёность создаются за счет высоких концентраций анионов Cl^- , HCO_3^{2-} и CO_3^{2-} , содержание которых варьировало от 40.3 до 154 г/л, от 62.3 до 78.9 г/л и от 28.8 до 42.6 г/л соответственно. В гидрохимическом

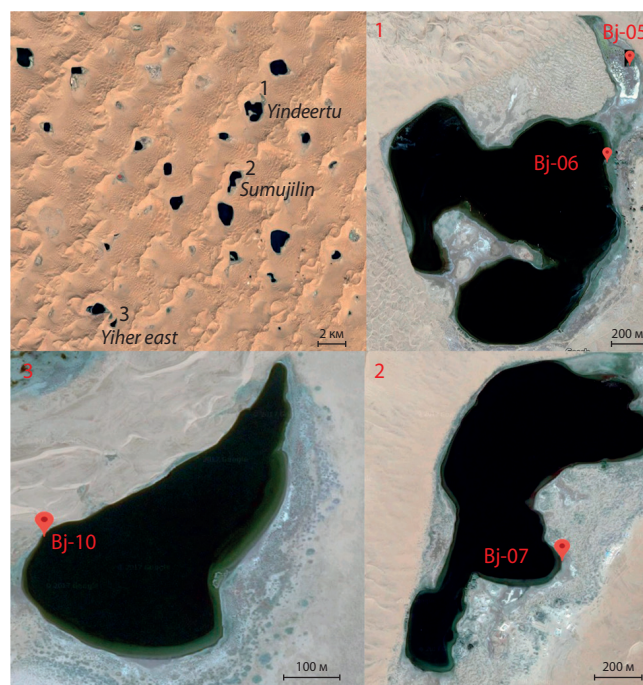


Рис. 2. Места отбора проб.

составе отмечается также значительное содержание аниона SO_4^{2-} – 13–57.2 г/л.

Катион Na является одним из компонентов высокоминерализованных озёр, его количество на изученных станциях составляло от 46 до 120 г/л. Отмечена прямая пропорциональная взаимосвязь Na^+ с минерализацией: чем выше содержание Na^+ , тем выше минерализация (см. табл. 1). Содержание K^+ значительно ниже по сравнению с Na^+ (от 7.5 до 29.2 г/л).

Содержание Ca^{2+} в исследуемых объектах не превышало 0.01 г/л, что обусловлено высокой щелочностью (Jones et al., 1994; Заварзин и др., 1999).

Главными компонентами содово-солёных озёр пустыни Бадаин Жаран являются ионы Na^+ , Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- и CO_3^{2-} . По классификации М.Г. Валяшко (1962), при преобладании вышеупомянутых компонентов исследуемые озёра относятся к карбонатному и хлоридному типу (Заварзин, 2007). Сумма ионов Na^+ , Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- , CO_3^{2-} варьировала от 210.2 до 426.4 г/л, максимальное значение было в оз. Yindeertu (Bj-05).

Таксономическая идентификация чистых культур алкалогалофильных бактерий

Из проб микробных матов и солевой корки озёр пустыни Бадаин Жаран было изолировано пять чистых культур гидролитических галофильных и алкалофильных бактерий. Таксономическую принадлежность выделенных чистых культур микроорганизмов определяли путем сравнения данных секвенирования продуктов амплификации генов 16S рПНК с данными NCBI BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) и LPSN (<http://www.bacterio.net>), где перечислены достоверно опубликованные имена прокариот. Этот анализ выявил сходство на уровне 98–99 % выделенных бактерий с известными культурами (табл. 2).

Таблица 2. Таксономическая идентификация штаммов, выделенных из содово-соленых озер пустыни Бадаин Жаран

Таксон	Штамм	Уровень гомологии	Станция отбора, проба	Выделен впервые Объект, страна	Лит. источник
<i>Salisediminibacterium halotolerans</i> halo-2	5P	99.9	Yindeertu (лагуна), соль	Содовое озеро Xiarinaoer (Внутренняя Монголия), осадок	Jiang et al., 2012
<i>Salisediminibacterium haloalkalitolerans</i> 10 nlgT	10P	99.9	Yiher east, микробный мат	Содовое озеро Лонар (Индия), осадок	Sultanpuram et al., 2015
<i>Pelagirhabdus</i> (<i>Amphibacillus</i>) <i>fermentum</i> Z-7984	6G	98	Yindeertu, микробный мат	Содово-соленое озеро Магади (Кения), осадок	Sultanpuram et al., 2016
<i>Bacillus selenitireducens</i> MLS10	7G	99.9	Sumujilin, микробный мат	Озеро Моно (Калифорния)	Switzer et al., 1998
<i>Salsuginibacillus halophilus</i> halo-1	7-300	99.9	Sumujilin, микробный мат	Содовое озеро Xiarinaoer (Внутренняя Монголия), осадок	Cao et al., 2010

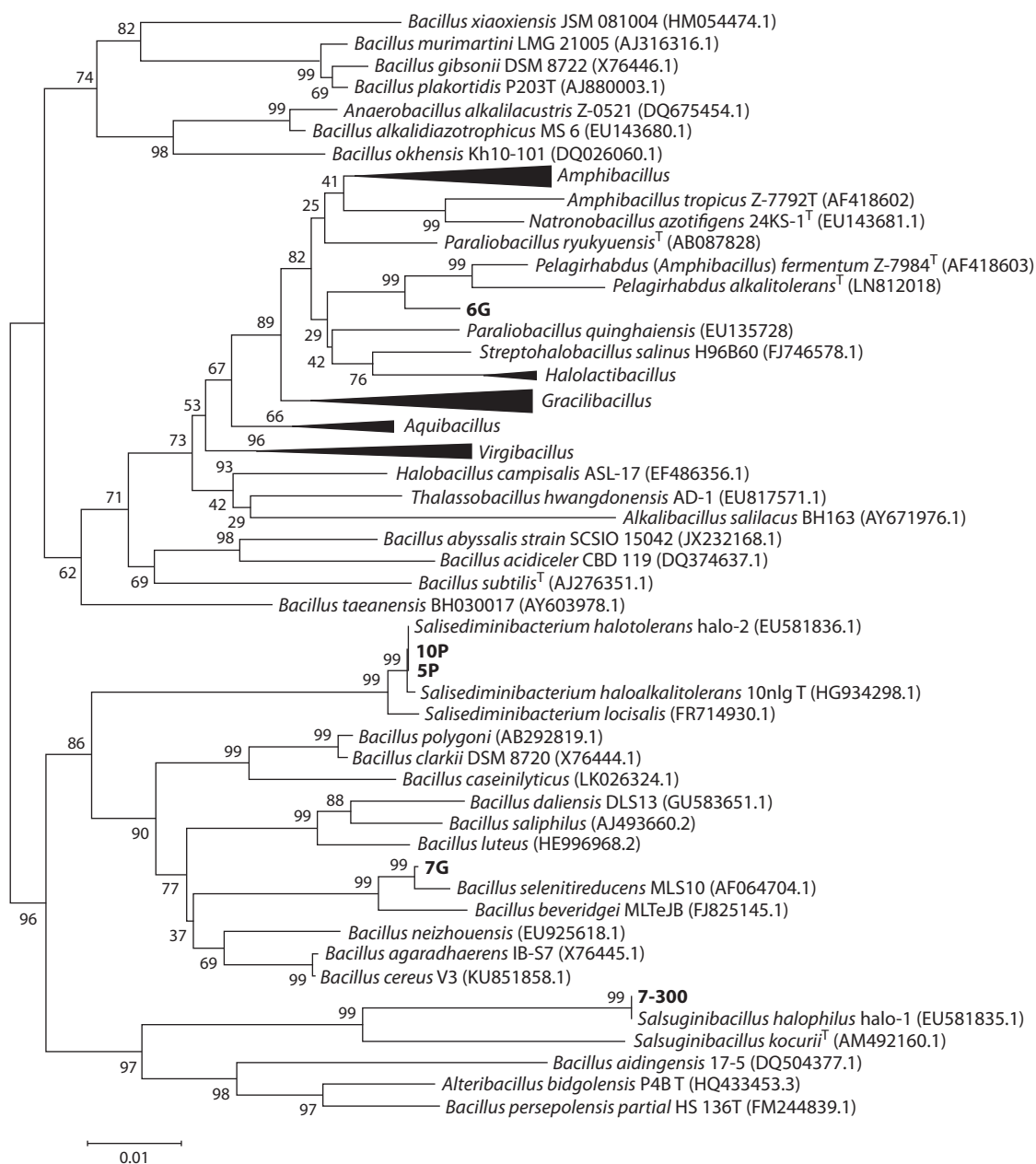


Рис. 3. Филогения выделенных чистых культур.

Таблица 3. Основные характеристики выделенных чистых культур микроорганизмов

Показатель	Штаммы				
	7G ¹	10P ²	5P ³	7-300 ⁴	6G ⁵
Форма колоний	Круглая	Круглая	Круглая	Круглая	Круглая
Профиль колоний	Каплевидный	Выпуклый	Выпуклый	Каплевидный	Каплевидный
Край колоний	Гладкий	Гладкий	Гладкий	Гладкий	Гладкий
Цвет колоний	Желтый	Желтый	Желтый	Кремовый	Белый
Формирование спор	Н. д.	–	–	+	+
Размер колоний, мм	1–2	2–5	2–5	1–2	2–3
Размер клеток, мкм	2–3 × 0.2/2–6 × 0.5*	1 × 0.2/н. д.*	1–2 × 0.3/ (2.5–4.5) × (0.5–0.8)*	4–5 × 0.5/ (2.5–4.5) × (0.5–0.8)*	1–2 × 0.1/ (1.5–4) × (0.5–0.75)*
Подвижность	Нет	Нет	Нет	Нет	Есть
Окраска по Граму	Отриц.	Полож.	Полож.	Полож.	Отриц.
Концентрация NaCl для роста, г/л					
Диапазон	50–200/20–220*	40–250/20–300*	40–200/30–300*	60–300/90–300*	50–200/0–200*
Оптимум	20/24–60*	100/80–100*	150/90*	200/190*	20/95–105*
pH для роста					
Диапазон	8–10/8.5–10*	8–11/6–12*	8–10.5/5–10.0*	7–10.5/5–10*	7–10.5/8–10.5*
Оптимум	9/9*	9/8.5–9*	9/8*	9/9*	9/9*
Температура, °C					
Диапазон	10–50/н. д.*	10–50/20–50*	10–50/18–50*	10–50/18–50*	10–50/20–55*
Оптимум	37/н. д.*	30/30–35*	30/37*	37/37*	37/37*

Примечание. Здесь и далее: 7G – *Bacillus selenitireducens* MLS10; 10P – *Salisediminibacterium haloalkalitolerans* 10 nlgT; 5P – *Salisediminibacterium halotolerans* halo-2; 7-300 – *Salsuginibacillus halophilus* halo-1; 6G – *Pelagirhabdus (Amphibacillus) fermentum* Z-7984, *Bacillus selenitireducens* MLS10, *Salsuginibacillus halophilus* halo-1.

* Значения представлены по литературным данным: ¹ (Switzer et al., 1998); ² (Sultanpuram et al., 2015); ³ (Jiang et al., 2012); ⁴ (Cao et al., 2010); ⁵ (Sultanpuram et al., 2016). Н. д. – нет данных.

Установлена принадлежность к домену Bacteria. Пять изолятов, выделенных из исследованных озер, близкородственны семейству Bacillaceae филума Firmicutes. Это виды *Salisediminibacterium halotolerans* halo-2, *Salisediminibacterium haloalkalitolerans* 10 nlgT, *Pelagirhabdus (Amphibacillus) fermentum* Z-7984, *Bacillus selenitireducens* MLS10, *Salsuginibacillus halophilus* halo-1.

В ходе работы выполнен филогенетический анализ родства выделенных штаммов. Дендрограмма, отражающая филогенетические отношения использованных в работе штаммов родов *Salisediminibacterium*, *Pelagirhabdus*, *Bacillus* и *Salsuginibacillus*, приведена на рис. 3.

Эколого-физиологические характеристики выделенных чистых культур

Выделенные чистые культуры бактерий образуют круглые колонии белого, бежевого или желтого цвета. Профиль колоний выпуклый или каплевидный, край гладкий, размеры варьируют от 1 до 5 мм. Клетки бактерий представлены палочками, размеры которых составляют 1–5 × 0.2–0.5 мкм (табл. 3).

При культивировании на среде Пфеннига в оптимальных значениях pH 9, солености 100 г/л и температуре 37 °C рост культур наступал на 1–2-е сутки. На рис. 4 показаны фазы роста микроорганизмов. Экспоненциальная фаза длилась 2–3 сут, продолжительность стационарной фазы – до 8–9 сут, после наступала фаза отмирания клеток.

Выделенные штаммы характеризуются различным отношением к pH, концентрации NaCl и температуре,

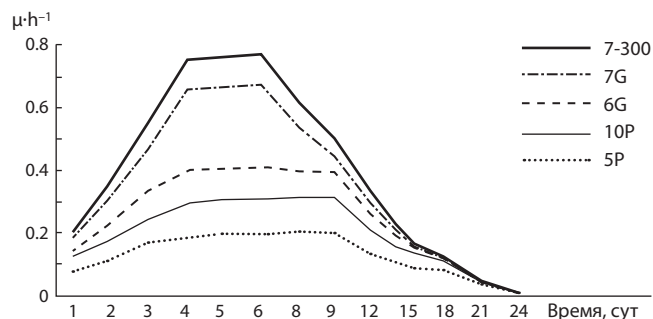


Рис. 4. Кривые роста чистых культур выделенных штаммов алкалогалофильных бактерий.

присутствию в среде карбонатов и ионов натрия (рис. 5). Штаммы 7G, 10P и 5P растут в диапазоне pH от 8 до 10.5, проявляя свойства облигатных алкалофилов с оптимумом pH 9, кроме штамма 10P, для которого оптимум pH составил 10 (рис. 5, а). Штаммы 6G и 7-300 представляют собой алкалотолерантные бактерии с диапазоном pH 7–10.5 и оптимумом 9.

По отношению к концентрации NaCl выделенные штаммы 7G и 6G являются галотолерантными бактериями с диапазоном роста 5–200 г/л и оптимумом 20 г/л. Близкородственные штаммы 10P и 5P относятся к галофилам с оптимумами роста 100 и 150 г/л соответственно, а штамм 7-300 – к экстремальным галофилам с диапазоном роста 60–300 г/л и оптимумом 200 г/л (см. рис. 5, б).

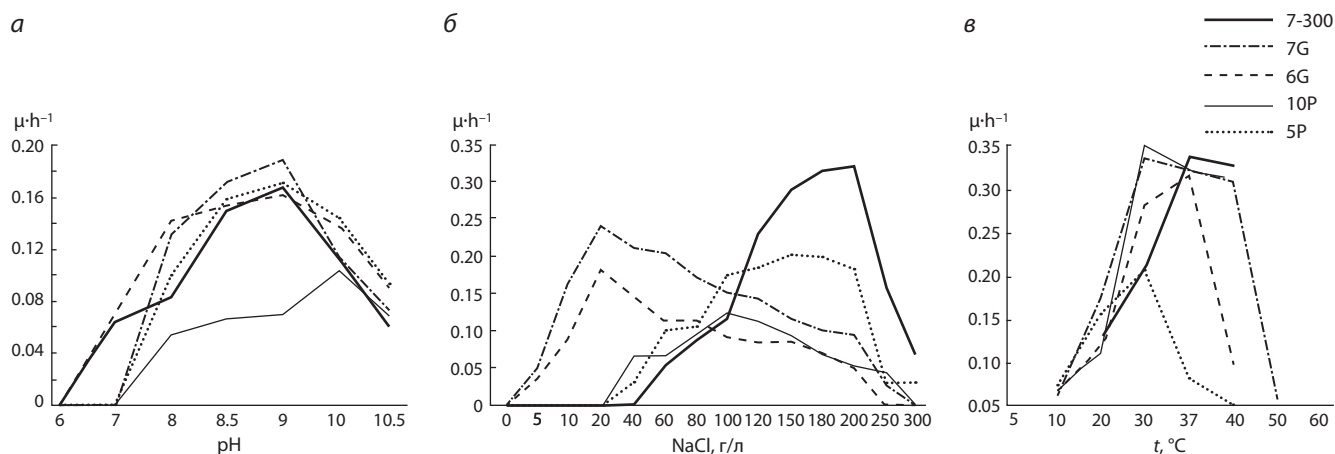


Рис. 5. Определение оптимума и границ развития выделенных штаммов: а – в градиенте щелочности; б – солёности (по концентрации NaCl); в – в температурном градиенте.

Таблица 4. Использование субстратов выделенными бактериями

Субстрат	7G	10P	5P	7-300	6G
Ацетат	±	±	±	–	–
Лактат	±	±	–	–	–
Цитрат	–	–	–	–	–
Пируват	±	+	+	–	–
Этанол	±	+	+	–	–
Глицерин	–	±	+	+	–
Лактоза	±	+	+	+	+
D-ксилоза	±	–	±	+	+
Трегалоза	±	±	±	+	+
Сахароза	+	+	+	+	+
D-манноза	±	±	±	+	+
D-сорбит	±	±	+	+	+
L-арабиноза	±	±	±	+	+
Рамноза	±	±	+	+	–
D-целлобиоза	±	+	+	+	+
Рибоза	±	–	+	+	±
Крахмал	+	+	±	–	+
Фруктоза	+	±	±	+	+
Глюкоза	+	±	±	+	+
Мальтоза	±	+	+	+	+
Галактоза	±	+	+	+	±
Пептон	+	+	+	+	+
Триптон	+	+	+	+	+
Казеин	–	+	+	+	–
Желатин	±	±	+	+	–

Примечание. «±» – отмечен слабый рост; «+» – отмечен активный рост; «–» – нет роста.

По отношению к температуре выделенные микроорганизмы являются мезофилами с оптимальным ростом в пределах 30–40 °C и температурным диапазоном роста от 10 до 50 °C (см. рис. 5, в).

В ходе исследований был определен спектр используемых микроорганизмами субстратов (табл. 4). Все штаммы активно используют моно- и дисахариды: мальтозу, галактозу, лактозу, трегалозу, сахарозу, D-маннозу, D-сорбит, L-арабинозу, D-целлобиозу, фруктозу, глюкозу, D-ксилозу, рибозу и рамнозу. Штамм 10P не растет на D-ксилозе и рибозе, штамм 6G не растет на рамнозе. На крахмале рост отмечен у всех чистых культур, кроме штамма 7-300.

Рост на ацетате, лактате, цитрате и пирувате слабый или отсутствует, кроме штаммов 10P и 5P, которые активно растут на пирувате. На этаноле активный рост отмечен вновь у штаммов 10P и 5P, слабый – у штамма 7G, у остальных культур роста нет. На глицерине активно растут штаммы 7-300 и 5P, слабый рост наблюдается у штамма 10P, у штаммов 7G и 6G рост отсутствует.

На олигопептидных субстратах, таких как триптон и пептон, отмечен активный рост у всех чистых культур. На полипептидных субстратах казеине и желатине есть активный рост только у штаммов 5P и 7-300. Штаммы 7G и 6G не растут на казеине, на желатине обнаружен слабый рост у штаммов 7G и 10P.

Обсуждение

Проведенные исследования в соленых озерах пустыни Бадаин Жаран позволили выделить и идентифицировать чистые культуры алкалогалофильных гидролитических бактерий семейства Bacillaceae филума Firmicutes. Выделенные бактерии проявляют свойства истинных алкалофилов и облигатных алкалофилов, диапазон роста которых находится в пределах pH от 7 до 10.5, оптимум pH составляет 9–10. При определении диапазона и оптимума концентрации NaCl штаммы проявили свойства облигатных и экстремальных галофилов. Полученные результаты указывают на то, что в высокоминерализованных озерах пустыни развиваются гидролитические бактерии, адаптированные к уникальным экстремальным условиям среды.

Выделенные нами штаммы 5P и 6G отличаются от ближайших гомологов по экофизиологическим параметрам роста. У штамма 5P оптимум роста обнаружен при концентрации NaCl 150 г/л, а у *Salisediminibacterium halotolerans* – при 90 г/л. Оптимумы pH и температуры для штамма 5P составили 9 и 30 °C соответственно (см. табл. 3), тогда как для гомолога *Salisediminibacterium halotolerans* оптимум развития выявлен при pH 8 и температуре 37 °C. Штамм 6G показал более низкий оптимум развития при NaCl – 20 г/л, по сравнению с 95–105 г/л у гомолога *Pelagirhabdus fermentum*. У штаммов 7G, 10P и 7-300 полученные результаты по экофизиологии сопоставимы с литературными данными (см. табл. 3).

Штаммы 10P и 5P относятся к роду *Salisediminibacterium* и показали максимальный уровень гомологии (99.9 %) с видами *Salisediminibacterium haloalkalitolerans* и *Salisediminibacterium halotolerans* соответственно. Галофильный микроорганизм *Salisediminibacterium haloalkalitolerans* был извлечен из донных отложений содового оз. Лонар (Индия) с минерализацией 80 г/л и pH 10–12 (Sultanpuram et al., 2015). Также отмечено, что бактерии *Salsuginibacillus halophilus* и *Salisediminibacterium halotolerans* были ранее выделены из одного озера – Xiarinaoer (Внутренняя Монголия) в разные годы разными авторами (Cao et al., 2010; Jiang et al., 2012).

Штамм 6G характеризуется относительно низким уровнем гомологии (98 %) с *Pelagirhabdus fermentum*, который ранее был отнесен к роду *Amphibacillus* и впервые описан Жилиной и др. (2001) в донном осадке содового оз. Магади (Кения). В 2016 г. *Amphibacillus fermentum* был переименован в *Pelagirhabdus fermentum* на основании филогенетических, хемотаксономических и биохимических анализов (Sultanpuram, 2016).

Полученные нами чистые культуры бактерий родов *Salisediminibacterium*, *Pelagirhabdus*, *Bacillus* и *Salsuginibacillus* не являются строго приуроченными к обитанию в соленых озерах пустыни Бадаин Жаран, а имеют широкий ареал распространения, включающий соленые и содовые озера Индии, США, Кении.

В отношении используемых субстратов выделенные культуры отличаются высокой метаболической активностью и способны к утилизации широкого спектра субстратов. Культуры 10P, 5P и 6G проявляют активный рост на углеводах и относятся к потенциально алкалофильным бактериям, которые могут активно применяться в промышленной индустрии для производства внеклеточных щелочных амилаз и целлюлаз. Внеклеточные амилолитические и целлюлазные ферменты микроорганизмов находят коммерческое применение в некоторых отраслях пищевой, текстильной, химической и медицинской промышленности (Annamalai et al., 2011; Roy et al., 2012).

Штаммы 10P, 5P и 7-300 показали активный рост на полипептидных и олигопептидных субстратах: триптоне, пептоне и казеине. Микробные щелочные протеазы представляют большой интерес из-за их высокой активности и стабильности в щелочных условиях. Предположительно, внеклеточные щелочные протеолитические ферменты могут быть использованы в кожевенном производстве (обезволаживание шкур, смягчение кожи), в качестве детергента (удаление белковых загрязнений), в пищевой

промышленности (получение белкового гидролизата, мягчение мяса и рыбы) и в сельском хозяйстве в качестве кормовой добавки (Gupta et al., 2002). Промышленные щелочные амилазы и пептидазы чаще всего получают из родов *Bacillus* и *Pseudomonas* (Roy et al., 2012; Aruna et al., 2014; Lakshmi et al., 2014; Chinnathambi, 2015; Shine et al., 2016).

По результатам проведенных исследований можно предположить, что в естественных условиях обитания алкалогалофильные представители семейства Bacillaceae вовлечены в микробиологические процессы деструкции органического вещества. Полученные результаты расширяют представления о разнообразии и экологическом значении бактерий в экстремальных природных экосистемах. Выделенные штаммы представляют интерес для биотехнологии как продуценты ферментов, устойчивых к высоким значениям pH и минерализации.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке ФАНО (№ АААА-А17-117011810034-9) и Министерства образования и науки РФ (№ 6.9754.2017/БЧ).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Болтянская Ю.В. Галоалкалофильные денитрифицирующие бактерии рода *Halomonas* из содовых озер. Труды Ин-та микробиологии им. С.Н. Виноградского. Вып. 14. Алкалофильные микробные сообщества. М.: Наука, 2007;276-298.
- Заварзин Г.А. Образование содовых условий как глобальный процесс. Труды Ин-та микробиологии им. С.Н. Виноградского. Вып. 14. Алкалофильные микробные сообщества. М.: Наука, 2007;8-57.
- Заварзин Г.А., Жилина Т.Н. Содовые озера – природная модель древней биосферы континентов. Природа. 2000;2:1-9.
- Заварзин Г.А., Жилина Т.Н., Кевбрин В.В. Алкалофильное микробное сообщество и его функциональное разнообразие. Микробиология. 1999;68(5):579-599.
- Нетрусов А.И. Практикум по микробиологии. М., 2005.
- Annamalai N., Thavasi R., Vijayalakshmi S., Balasubramanian T. Extraction, purification and characterization of thermostable, alkaline tolerant α -amylase from *Bacillus cereus*. Indian J. Microbiol. 2011; 51(4):424-429. DOI 10.1007/s12088-011-0160-z.
- Aruna K., Jill S., Radhika B. Production and partial characterization of alkaline protease from *Bacillus tequilensis* strains CSGAB0139 isolated from spoilt cottage cheese. Int. J. Appl. Biol. Pharm. Technol. 2014;5(3):201-221.
- Boutaiba S., Hacene H., Bidle K.A., Maupin-Furlow J.A. Microbial diversity of the hypersaline Sidi Ameur and Himalatt Salt Lakes of the Algerian Sahara. J. Arid Environ. 2011;75(10):909-916. DOI 10.1016/j.jaridenv.2011.04.010.
- Bryanskaya A.V., Malup T.K., Lazareva E.V., Taran O.P., Rozanov A.S., Efimov V.M., Peltek S.E. The role of environmental factors for the composition of microbial communities of saline lakes in the Novosibirsk region. BMC Microbiol. 2016;16(S1):4-17. DOI 10.1186/s12866-015-0618-y.
- Cao S.-J., Qu J.-H., Yuan H.-L., Li B.-Z. *Salsuginibacillus halophilus* sp. nov., a halophilic bacterium isolated from a soda lake. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2010;60(6):1339-1343. DOI 10.1099/ijs.0.010181-0.
- Casamayor E.O. Microbial biodiversity in saline shallow lakes of the Monegros Desert, Spain. FEMS Microbiol. Ecol. 2013;85(3):503-518. DOI 10.1111/1574-6941.12139.

- Chinnathambi A. Industrial important enzymes from alkaliphiles – an overview. *Biosci. Biotechnol. Res. Asia*. 2015;12(3):2007-2016. DOI 10.13005/bbra/1868.
- Dong Z., Qian G., Lu P., Hu G. Investigation of the sand sea with the tallest dunes on Earth: China's Badain Jaran Sand Sea. *Earth-Science Rev.* 2013;120(322):20-39. DOI 10.1016/j.earscirev.2013.02.003.
- Fadrosh D.W., Ma B., Gajer P., Sengamalay N., Ott S., Brotman R.M., Ravel J. An improved dual-indexing approach for multiplexed 16S rRNA gene sequencing on the Illumina MiSeq platform. *Microbiome*. 2014;2(6):2-7. DOI 10.1186/2049-2618-2-6.
- Glaring M.A., Vester J.K., Lylloff J.E., Al-Soud W.A., Soerensen S.J., Stougaard P. Microbial diversity in a permanently cold and alkaline environment in Greenland. *PLoS One*. 2015;10(4):1-22. DOI 10.1371/journal.pone.0124863.
- Gupta R., Beg Q., Lorenz P. Bacterial alkaline proteases: Molecular approaches and industrial applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2002;59(1):15-32. DOI 10.1007/s00253-002-0975-y.
- Hofmann J. The lakes in the SE part of the Badain Jaran Shamo, their limnology and geochemistry. *Geowissenschaften*. 1996;7(14):275-278. DOI 10.2312/geowissenschaften.1996.14.275.
- Jiang F., Cao S.J., Li Z.H., Fan H., Li H.F., Liu W.J., Yuan H.L. *Salisediminibacterium halotolerans* gen. nov., sp. nov., a halophilic bacterium from soda lake sediment. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2012;62(9):2127-2132. DOI 10.1099/ijs.0.034488-0.
- Jones B.E., Grant W.D., Collins N.C., Mwatha W.E. Alkaliphiles: diversity and identification. In: F.G. Priest, A. Ramos-Cormenzana, B.J. Tindall (Eds.). *Bacterial Diversity and Systematics*. Federation of Eur. Microbiol. Soc. Symp. Ser. Springer, Boston, MA, 1994;75:195-230. DOI 10.1007/978-1-4615-1869-3_12.
- Kumar R.M., Kaur G., Kumar A., Bala M., Singh N.K., Kaur N., Mayilraj S. Taxonomic description and genome sequence of *Bacillus campisalis* sp. nov., a member of the genus *Bacillus* isolated from a solar saltern. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2015;65(10):3235-3240. DOI 10.1099/ijs.0.000400.
- Lakshmi B.K.M., Sri P.V.R., Devi K.A., Hemalatha K.P.J. Media optimization of protease production by *Bacillus licheniformis* and partial characterization of Alkaline protease. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 2014;3(5):650-659.
- Li L., Hao C., Wang L., Pei L. Microbial diversity of salt lakes in Badain Jaran desert. *Acta Microbiol. Sin.* 2015;55(4):412-424. PMID 26211315.
- Mandic-Mulec I., Stefanic P., Van Elsas J.D. Ecology of Bacillaceae. *Microbiol. Spectrum*. 2015;3(2):1-24. DOI 10.1128/microbiolspec.TBS-0017-2013.
- Marteinsson V.T., Bjornsdottir S.H., Bienvenu N., Kristjansson J.K., Birrien J.L. *Rhodothermus profundus* sp. nov., a thermophilic bacterium isolated from a deep-sea hydrothermal vent in the Pacific Ocean. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2010;60(12):2729-2734. DOI 10.1099/ijs.0.012724-0.
- Mwirichia R., Cousin S., Muigai A.W., Boga H.I., Stackebrandt E. Bacterial diversity in the haloalkaline lake Elmenteita, Kenya. *Curr. Microbiol.* 2011;62(1):209-221. DOI 10.1007/s00284-010-9692-4.
- Park S., Song J., Yoshizawa S., Choi A., Cho J.C., Kogure K. *Rubrivirga marina* gen. nov., sp. nov., a member of the family Rhodothermaceae isolated from deep seawater. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2013;63(6):2229-2233. DOI 10.1099/ijs.0.046318-0.
- Roy J.K., Rai S.K., Mukherjee A.K. Characterization and application of a detergent-stable alkaline α -amylase from *Bacillus subtilis* strain AS-S01a. *Int. J. Biol. Macromol.* 2012;50(1):219-229. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2011.10.026.
- Shine K., Kanimozhi K., Panneerselvam A., Muthukumar C., Thajuddin N. Production and optimization of alkaline protease by *Bacillus cereus* RS3 isolated from desert soil. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.* 2016;3(7):193-202.
- Sorokin D.Y., Gorlenko V.M., Namsaraev B.B., Namsaraev Z.B., Ly-senko A.M., Eshinimaev B.T., Kuenen J.G. Prokaryotic communities of the north-eastern Mongolian soda lakes. *Hydrobiologia*. 2004;522(1-3):235-248. DOI 10.1023/B:HYDR.0000029989.73279.e4.
- Sultanpuram V.R., Mothe T., Chintalapati S., Chintalapati V.R. *Pelagirhabdus alkalitolerans* gen. nov., sp. nov., an alkali-tolerant and thermotolerant bacterium isolated from beach sediment, and reclassification of *Amphibacillus fermentum* as *Pelagirhabdus fermentum* comb. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2016;66:84-90. DOI 10.1099/ijs.0.000678.
- Sultanpuram V.R., Mothe T., Mohammed F. *Salisediminibacterium haloalkalitolerans* sp. nov., isolated from Lonar soda lake, India, and a proposal for reclassification of *Bacillus locisalis* as *Salisediminibacterium locisalis* comb. nov., and the emended description of the genus *Salisediminibacterium* and of the species *Salisediminibacterium halotolerans*. *Arch. Microbiol.* 2015;197(4):553-560. DOI 10.1007/s00203-015-1081-8.
- Switzer B.J., Burns B.A., Buzzelli J., Stolz J.F., Oremland R.S. *Bacillus arsenicoselenatis* sp. nov., and *Bacillus selenitireducens* sp. nov.: two haloalkaliphiles from Mono Lake, California that respire oxyanions of selenium and arsenic. *Arch. Microbiol.* 1998;171:19-30. DOI 10.1007/s002030050673.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 2013;30(12):2725-2729. DOI 10.1093/molbev/mst197.
- Yang X., Ma N., Dong J., Zhu B., Bing X., Zhibang M., Jiaqi L. Recharge to the inter-dune lakes and Holocene climatic changes in the Badain Jaran Desert, western China. *Quaternary Res.* 2010;73(1):10-19. DOI.org/10.1016/j.yqres.2009.10.009.
- Zhilina T.N., Garnova E.S., Turova T.P., Kostrikina N.A., Zavarzin G.A. *Amphibacillus fermentum* sp. nov. and *Amphibacillus tropicus* sp. nov., new alkaliphilic, facultatively anaerobic, saccharolytic Bacilli from Lake Magadi. *Microbiology*. 2001;70(6):711-722. DOI 10.1023/A:1013196017556.



Изменчивость расового состава заразики подсолнечниковой (*Orobanche cumana* Wallr.) и новые стратегии защиты от паразита

С.Г. Хаблак¹✉, Я.А. Абдуллаева², Я.С. Рябовол³

¹ Агропромхолдинг «Кернел», Научно-исследовательский центр, Варва, Украина

² Агропромхолдинг «Кернел», Испытательная лаборатория, Варва, Украина

³ Уманский национальный университет садоводства, кафедра генетики, селекции растений и биотехнологии, Умань, Украина

Заразиха подсолнечниковая – паразитическое бесхлорофилльное растение, поражающее корневую систему растения-хозяина, поглощающее из нее воду, питательные вещества и выделяющее токсичные продукты обмена. Прорастание семян заразики происходит благодаря стриголактонам, выделяемым в почву корнями подсолнечника, которые привлекают арбускулярные микоризные грибы (АМ-грибы). Стриголактоны являются веществами «голода» растений и относятся к новому классу фитогормонов, участвующих во многих физиологических процессах, в том числе в регулировании доступности питательных веществ корнями. У заразики был идентифицирован специфичный рецептор KARRIKIN INSENSITIVE2 DIVERGENT (KAI2d), который участвует в дифференцированном распознавании корневых экссудатов подсолнечника. В геноме паразита установлено несколько генов *KAI2d*, кодирующих рецепторы KAI2d. В связи с открытием перечисленных веществ обсуждаются новые стратегии защиты подсолнечника от заразики, которые находятся на стадии разработки. На основе стриголактонов создан синтетический препарат GR24 и его аналоги с целью внесения их в почву для стимулирования прорастания семян заразики. Аминокислота метионин сильно ингибирует раннее развитие заразики без фитотоксичного эффекта у подсолнечника. Семена заразики хуже распознают корни подсолнечника, которые колонизированы АМ-грибами, бактериями *Rhizobium leguminosarum*, *Azospirillum brasilense*, из-за изменения состава корневых экссудатов в колонизированных растениях. Большой интерес среди синтезированных элиситоров представляет ацибензолар-S-метил. Он вызывает системную устойчивость к бактериальным, грибным и вирусным болезням, индуцирует синтез PR-белков, а также активизирует защитные реакции подсолнечника на внедрение заразики и приводит к одревеснению эндодермы и торможению проникновения гаусторий семян заразики через клеточную стенку клеток корня.

Ключевые слова: *Orobanche cumana* Wallr.; раса; подсолнечник; гибрид; корневая система; корневые выделения; стриголактоны.

Variability of racial composition of sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) and new strategies for protection from the parasite

S.G. Hablak¹✉, Y.A. Abdullaeva², I.S. Riabovol³

¹ Agropromholding "Kernel", Research Center, Varva, Ukraine

² Agropromholding "Kernel", Testing laboratory, Varva, Ukraine

³ Umanian National Horticulture University, Department of genetics, plant breeding and biotechnology, Uman, Ukraine

Sunflower broomrape is a parasitic chlorophyll plant that affects the root system of the host plant, absorbing water, nutrients and toxic products from it. Germination of broomrape seeds occurs due to strigolactones released into the soil by the roots of sunflower, which attracts arbuscular mycorrhizal fungi (AM-fungi). Strigolactones are substances of the "hunger" of plants and belong to a new class of phytohormones involved in many physiological processes, including the regulation of the availability of nutrients by the roots. The specific receptor KARRIKIN INSENSITIVE2 DIVERGENT (KAI2d) was identified in the broomrape, which is involved in the differential recognition of root sunflower exudates. Several genes of *KAI2d* have been established in the parasite genome, which encode the KAI2d receptors. As a result of the discovery of substances involved in the germination of broomrape seeds, new strategies for protecting sunflower from this parasitic plant are being discussed, which are under development. On the basis of strigolactones, a synthetic preparation, GR24, and its analogues have been created with the aim of introducing them into the soil to stimulate germination of broomrape seeds. The amino acid methionine strongly inhibits the early development of broomrape without a phytotoxic effect in sunflower. Seeds of broomrape are less likely to recognize the roots of sunflower, which are colonized by AM fungi, bacteria *Rhizobium leguminosarum*, *Azospirillum brasilense* due to a change in the composition of root exudates in colonized plants. Of great interest among the synthesized elicitors is acibenzolar-S-methyl. It causes systemic resistance to bacterial, fungal and viral diseases, induces the synthesis of PR proteins, and also activates the protective reactions of sunflower to the introduction of broomrape and leads to lignifica-



tion of the endoderm and inhibition of haustoria of the broomrape seeds through the cell wall of the root cells.

Key words: *Orobanche cumana* Wallr.; race; sunflower; hybrid; root system; root allocation; strigolactones.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Хаблак С.Г., Абдуллаева Я.А., Рябовол Я.С. Изменчивость расового состава заразики подсолнечниковой (*Orobanche cumana* Wallr.) и новые стратегии защиты от паразита. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(3):379-385. DOI 10.18699/VJ18.374

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Hablak S.G., Abdullaeva Y.A., Riabovol I.S. Variability of racial composition of sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) and new strategies for protection from the parasite. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(3):379-385. DOI 10.18699/VJ18.374 (in Russian)

Заразиха подсолнечниковая (*Orobanche cumana* Wallr.) – паразитическое бесхлорофилльное растение, поражающее корневую систему растения-хозяина, поглощающее из нее воду, питательные вещества и выделяющее токсичные продукты обмена (Бурлов, 2010). В настоящее время известно уже более девяти рас заразики (А, В, С, D, Е, F, G, H и I), которые обладают неодинаковой способностью поражать различные сорта и гибриды подсолнечника (Melero-Vara et al., 2000). Они идентифицируются в зависимости от их реакции на гибриды подсолнечника и растения-тестеры (линии подсолнечника – дифференциаторы рас заразики). Появление новых рас заставляет селекционеров создавать новые заразикустойчивые сорта и гибриды подсолнечника, которые по устойчивости превосходят уже существующие (Shindrova, 2006).

Однако в силу высокой способности заразики к мутациям очень быстро возникают новые расы этого паразита. Исследователи не успевают выводить сорта и гибриды, устойчивые против всех рас (Гончаров и др., 2012), в связи с чем чрезвычайно важным является определение расового состава заразики, распространенной в посевах подсолнечника. Ошибки в выборе и посеве неустойчивых гибридов подсолнечника – одна из основных причин распространения заразики. После идентификации наиболее вирулентной расы заразики ученые ищут ген устойчивости среди сортов-популяций, диких форм и культурного подсолнечника и на основе этого материала уже создают линии (Гучетль и др., 2012).

Подсолнечник обладает иммунной системой, включающей разные механизмы защиты в ответ на проникновение заразики. Различают две основные системы защиты: узнавание рецепторами растения патоген-ассоциированных молекулярных образцов и индуцированный эффектором иммунитет. У подсолнечника на основании базового защитного ответа, инициируемого на ранних стадиях взаимодействия патогена и растения, через узнавание рецепторами клетки внедряющегося патогена формируется общая, или неспецифическая, устойчивость. На начальном этапе прорастания семян заразики, прикрепления и проникновения гаустории в корень известно несколько механизмов, приводящих к возникновению общей устойчивости подсолнечника к паразиту. К ним относятся снижение экссудации стриголактонов корнями хозяина, укрепление клеточной стенки через поперечное сшивание белков или осаждение на ней метаболитов (лигнин, суберин, каллоза),

накопление токсичных фенольных соединений в точке заражения (Fernández-Martínez et al., 2008).

В то же время новые вирулентные расы заразики способны избегать узнавания растительными рецепторами и заражать подсолнечник. В ответ на эту угрозу новые устойчивые гибриды подсолнечника могут узнавать инфицирующие их патогены с помощью белков R (белки устойчивости, или резистентности), взаимодействующих непосредственно или опосредованно с эффекторами патогенов, которые являются видо- или штаммоспецифичными. Такое взаимодействие индуцирует сильный защитный ответ растения, который часто связан с клеточной смертью и формирует специфическую устойчивость подсолнечника к заразики (Thorogood, Hi, 2010).

Известен ряд механизмов, обуславливающих образование специфической устойчивости подсолнечника на этапе проникновения и заражения паразитом. К ним относятся: образование внутри сосудов-хозяев гелеобразных веществ, блокирующих передачу питательных веществ; формирование токсичных соединений, убивающих заразику; гибель внешних клеток корня (Fernández-Aparicio et al., 2008).

У подсолнечника имеется ряд генов, вызывающих устойчивость к разным расам заразики. Стойкость к расам растения-паразита обусловлена, как правило, доминантными генами: Or_1 вызывает стойкость к расе А; Or_2 – к расам А и В; Or_3 – к расам А, В и С; Or_4 – к расам А, В, С и D; Or_5 – к расам А, В, С, D и Е) и т. д. (Задорожна, 2012).

Общая и специфическая устойчивость подсолнечника к заразики может быть качественной (контролируется единичными доминантными генами) и количественной (контролируется несколькими генами). Качественная стойкость гибридов подсолнечника к цветковому паразиту достаточно хорошо изучена. Она часто рассматривается как устойчивость «ген против гена» и обычно весьма специфична в отношении определенного гибрида или сорта растения и конкретной расы патогена. Этот тип устойчивости подсолнечника к заразики не является длительным: под селекционным давлением, оказываемым устойчивыми гибридами, происходит отбор мутаций у патогена. В результате появляются новые расы заразики, которые поражают устойчивые гибриды подсолнечника. Именно качественная устойчивость подсолнечника к заразики, которая контролируется единичными доминантными генами, на протяжении долгого времени была мишенью

для создания гибридов, устойчивых к этому паразиту (Velasco et al., 2007).

Селекция подсолнечника на устойчивость к заразихе ведется постоянно на протяжении почти столетия, так как в ходе сопряженной эволюции с подсолнечником у этого растения-паразита периодически возникают новые вирулентные расы, преодолевающие иммунитет существующих сортов (Бейлин, 1968). Первыми сортами подсолнечника, устойчивыми к расе заразихи А, были: Круглик А-41, Саратовский 169, Фуксинка 3, Зеленка 10, Чернянка 35, Краснодарский 631 и др. (Пустовойт, 1966). Тем не менее в конце 1920-х гг. в ряде районов Украины, Северного Кавказа и Воронежской области почти все эти сорта в сильной степени стали поражаться заразихой (Плачек, 1921).

В середине 1930-х гг. были созданы сорта Ждановский 8281, Ждановский 8835 и др., которые оказались заразихоустойчивыми как к расе А, так и к более вирулентной расе В. Позднее, в до- и послевоенные годы, были получены похожие сорта подсолнечника – Зеленка 61, Передовик, ВНИИМК 8931, Армавирский 3497 (Пустовойт В.С., Пустовойт Г.В., 1963).

В начале 1960-х гг. появилась новая раса заразихи – С, так называемая молдавская популяция, что привело к эпифитотийной обстановке в стране. Все сорта отечественной селекции того времени оказались восприимчивыми к расе С (Бурлов, Костюк, 1976). Однако успешная десятилетняя селекция, направленная на выведение новых сортов подсолнечника, устойчивых к этой расе, позволила решить данную проблему (Антонова, 1978). В конце 1980-х гг. был проанализирован расовый состав популяций заразихи на посевных площадях подсолнечника в СССР и сделан вывод о преобладании повсеместно расы С (молдавский биотип) (Хатнянский, 1982).

Недавние исследования румынских и испанских ученых свидетельствуют о том, что в 2000–2007 гг. возникли новые, более вирулентные расы заразихи – Е (пятая), F (шестая), G (седьмая) и H (восьмая) (Melero-Vara et al., 2000). В настоящее время эти расы распространены в Испании, Румынии, Турции, Болгарии и ряде других стран (Kaça et al., 2004).

Примерно до конца 1990-х гг. проблем с заразихой на подсолнечнике в России и на Украине не возникало. Однако в последние годы из разных мест Ставропольского и Краснодарского краев, а также Ростовской области стали поступать сведения о сильной засоренности посевов подсолнечника заразихой (Антонова и др., 2011). В России и на Украине наблюдается поражение заразихой гибридов подсолнечника, обладающих устойчивостью к расе Е. Потеря резистентности гибридами подсолнечника, устойчивыми к пятой (Е) расе заразихи, – Згода, Од-249 и др. (Селекционно-генетический институт), Арена (Сингента), Рими, Титаник, NSH-2017 (Нови-Сад), PR-63H80 (Пионер) и др. – свидетельствует, вероятно, о возникновении и интенсивном накоплении новых, более вирулентных рас паразита (Бурлов, 2010).

В настоящее время ученые всего мира уделяют большое внимание изучению заразихи и выявлению генетических, селекционных, физиологических, биохимических и анатомических основ создания заразихоустойчивых гибридов и

сортов подсолнечника (Решетняк и др., 2012). Существует множество приемов и мер борьбы для защиты подсолнечника от заразихи, и в то же время до сих пор нет ни одного стопроцентно эффективного и приемлемого метода. К основным методам борьбы с этим растением-паразитом относятся: генетическая защита – использование устойчивых гибридов и сортов; химический контроль (технология Clear field), биологический контроль (грибы *Fusarium orobanchae*, мушки *Phytomyza orobanchia*); технология возделывания (возврат подсолнечника на прежнее место не ранее чем через 6–8 лет; глубокая вспашка; контроль сорняков, поражаемых данным паразитом – дурнишник, полынь; провокационные посевы культур, стимулирующих прорастание семян заразихи, – соя, лен, сурепица, рапс и др.) (Решетняк и др., 2012).

Перспективны при защите подсолнечника от заразихи культуры-ловушки, вызывающие суицидальное прорастание семян паразита. Ученые установили, что корневые выделения некоторых культур, в частности кукурузы, сорго, стимулируют прорастание семян заразихи, но поскольку данные культуры не восприимчивы к заразихе, ее проростки, не находя подходящих питающих растений, погибают. На этом явлении основано применение провокационных посевов в борьбе с заразихой (Бейлин, 1940).

Первая информация о зависимом симулировании прорастания семян паразитов из семейства Заразиховые (*Orobanchaceae*) корневыми выделениями других растений появилась еще в 1887 г. (Koch, 1887). Более поздние работы других ученых подтвердили данный факт (Шрейнер, 1904; Рихтер, 1924).

С появлением у заразихи подсолнечниковой разных рас проводились их сравнительные исследования с целью выявления различий. В частности, изучалось строение семян из различных популяций паразита (Пушкарева, 1930). Семена разных рас заразихи прорастивали в присутствии корневых выделений растений подсолнечника и некоторых химических веществ (Ничипорович, 1929).

В начале прошлого века семена заразихи были способны прорасти в воде, смеси Кнопа и в слабом растворе лимонной кислоты, однако к 1970-м гг. они утратили эту способность. Семена расы В, в отличие от расы А, не прорастали ни в дистиллированной воде, ни в кислотах, ни в буферных смесях, а только в присутствии корневых выделений подсолнечника (Барцинский, 1932).

При попытке выделения и идентификации стимулятора прорастания семян заразихи расы В из корневых выделений подсолнечника ученым удалось установить некоторые его свойства. Обнаружено, что активность пероксидазы в цветonoсах заразихи расы В вдвое выше, чем у заразихи расы А (Украинский, 1938).

Впервые исследования по стимулированию прорастания семян заразихи корневыми выделениями других растений – салата, льна, сои и кукурузы – были проведены И.Г. Бейлиным (1940). Недавно осуществлена серия сравнительных исследований, протестирован целый ряд растений и доказана целесообразность использования кукурузы в качестве культуры для провокационного прорастания семян заразихи (Ma et al., 2012). Н.М. Араслановой с коллегами (2011) изучено влияние корневых выделений 22 гибридов кукурузы и ряда масличных культур на про-

растание семян восьми популяций *O. cumana*. Показано, что гибриды кукурузы различаются по способности их корневых выделений вызывать прорастание семян зарази-хи из разных популяций. При этом действие гибридов избирательно, и необходимо проводить предварительное тестирование, чтобы определить, как влияют экссудаты их корней на способность к прорастанию семян зарази-хи, собранных на каждом конкретном поле.

Исследования последних лет позволили установить, что прорастание семян зарази-хи происходит благодаря выделяемым в почву корнями подсолнечника стриголак-тонам, которые привлекают арбускулярные микоризные грибы (АМ-грибы), поставляющие растению некоторые питательные вещества. В то же время семена растений-па-разитов обладают способностью чувствовать стриголак-тоны, что служит для них главным стимулом к прорастанию, прикреплению к корням растений-хозяина и высасыванию полезных веществ. Паразитизм можно считать тоже видом симбиоза, при котором один сожитель получает от него пользу, а другой – вред (Yoneyama et al., 2011).

АМ-грибы наиболее распространены в почве и постоян-но ассоциируют с корнями более чем 90 % растений. Микоризные эндогрибы проникают непосредственно в корень растения и образуют грибницу (мицелий), которая помогает корням укреплять иммунитет, бороться с воз-будителями различных заболеваний, всасывать воду, фос-фор и питательные вещества из почвы (Reinhardt, 2007). Предполагают, что возникновение симбиоза растений с АМ-грибами является ключевым шагом в эволюции рас-тений, позволившим им покинуть океаны и колонизиро-вать землю (Bonfante, Genre, 2008). Кроме того, считают, что повышение секреции стриголактонов при дефиците фосфора в растениях действует как сигнал в ризосфере для стимулирования развития АМ-грибов (Bouwmeester et al., 2007).

Стриголактоны – вещества «голода» растений, относят-ся к новому классу фитогормонов, которые выделяются корнями в почве и участвуют во многих физиологических процессах, таких как контроль развития побега, ответ на абиотические факторы, регулирование доступности питательных веществ. В последнее время на основе стриголактонов рассматриваются возможности создания новых антистрессовых препаратов, которые будут усили-вать арбускулярную микоризу (Albrecht et al., 1999). Так, на модельном растении *Arabidopsis* прослежена цепочка синтеза стриголактонов и определены ключевые гены-регуляторы этого процесса. Воздействуя на них, можно снизить образование данных веществ у растений. Кроме того, методом химического скрининга отобраны пять химических соединений, угнетающих прорастание семян зарази-хи. Эти вещества были названы котилимидами. По химической природе три из них относятся к фталимидам, два – к сукцинимидам. При обработке ими арабидопсиса в тканях снижался синтез стриголактонов, и семена за-рази-хи, посеянные в почву рядом с обработанными рас-тениями, не прорастали (Brewer et al., 2013).

С использованием информации, полученной на *Arabi-**dopsis*, у зарази-хи был идентифицирован специфичный ре-цептор KARRIKIN INSENSITIVE2 DIVERGENT (KAI2d), который участвует в дифференцированном распознавании

корневых экссудатов подсолнечника. В геноме паразита установлено несколько генов *KAI2d*, что кодируют реце-пторы KAI2d (Conn et al., 2015).

Гомологи гена *KAI2* найдены в зеленых водорослях харофитах (*Charophyte*) и наземных растениях – фискоми-трелле (*Physcomitrella patens*) и маршанции изменчивой (*Marchantia polymorpha*) (Waters et al., 2015). Биоинфор-мационные исследования показали, что ген *KAI2* пре-терпел обширное размножение и изменения лигандной специфичности в геномах паразитов. Гены *KAI2* в порядке Губоцветные (*Lamiales*) сгруппированы в три класса: консервативный (*KAI2c*), промежуточный (*KAI2i*) и ди-вергентный (*KAI2d*). Гены *KAI2c* и *KAI2i* возникли через дублирование гена *KAI2* в порядке Губоцветные, а гены *KAI2d* – путем дальнейшего дублирования и появления новых функций в зарази-хе (Conn et al., 2015).

В связи с открытием веществ, участвующих в прорас-тании семян зарази-хи, стали обсуждаться новые стратегии защиты подсолнечника от этого растения. Рассматривает-ся возможность ведения направленной селекции у под-солнечника по уменьшению выделения корнями в почву стриголактонов. С той же целью предлагается опрыски-вать гибриды подсолнечника котилимидами – вещества-ми, которые уменьшают синтез стриголактонов, что по-давляет прорастание семян паразита (Gomez-Roldan et al., 2008).

На основе стриголактонов созданы синтетический пре-парат GR24 и его аналоги с целью внесения их в почву для стимулирования прорастания семян зарази-хи. Однако применение этих препаратов ограничено высокой стои-мостью и быстрым разложением в почве (Mwakaboko, Zwanenburg, 2011).

Другой стратегией, направленной на стимулирование суицидального прорастания семян зарази-хи, может быть использование гиббереллинов. Они способствуют прорас-танию семян некоторых аутоотрофных видов растений и являются недорогой альтернативой природным биорегу-ляторам для борьбы с семенами паразита (Metzger, 1983).

Существуют и другие стимуляторы прорастания семян зарази-хи, например грибковые метаболиты котилиенинов и фуцикоцинов, растительные гормоны жасмонаты (Evidente et al., 2006). Кроме того, лекарственное растение хауттуй-ния сердцевидная (*Houttuynia cordata* Thunb.) производит и эксудировать стимуляторы, которые стабильны в почве (Ma et al., 2005).

Интерес представляют также метаболиты гриба *Alter-**naria tenuis*, выделяющие тенуазоновую кислоту с ин-гибирующей активностью на семена зарази-хи. Однако эффективность тенуазоновой кислоты доказана только в лабораторных условиях. Несмотря на потенциал таких метаболитов, полевые эксперименты с ними до сих пор сложны из-за трудностей по очистке в промышленном масштабе (Vurro et al., 2009).

Аминокислота метионин, которая производится в боль-ших коммерческих масштабах как добавка для корма жи-вотных, сильно ингибирует раннее развитие зарази-хи без фитотоксичного эффекта у подсолнечника. В этой связи метионин может быть использован в качестве гербицида от зарази-хи, но для подтверждения его эффективности необходимы полевые испытания (Sands, Pilgeram, 2009).

Одной из альтернатив является также использование эндوفитных бактерий, обитающих во внутренних тканях большинства растений (Hallmann, 2001). Эти бактерии играют важную роль во многих аспектах биологии своего хозяина, включая увеличение скорости его роста, повышение толерантности к стрессу, предоставление важнейших питательных веществ, подавление патогенов, усиление иммунной системы растения (East, 2013). Недавно было установлено, что эндوفитная бактерия *Azospirillum brasilense* ингибирует прорастание семян заразики и ее дальнейшее развитие на корнях подсолнечника (Hemissi et al., 2013).

Семена заразики хуже распознают корни подсолнечника, которые колонизированы АМ-грибами, бактериями *Rhizobium leguminosarum* и *Azospirillum brasilense*, из-за изменения состава корневых экссудатов в колонизированных растениях (Louarn et al., 2012). Было продемонстрировано снижение содержания веществ, вызывающих прорастание семян заразики, в корневых экссудатах микоризных растений (López-Ráez et al., 2011). Эти изменения способствуют тому, что семена заразики не прорастают и не заражают подсолнечник.

Исследования по структуре и функции микробиоты на корнях подсолнечника выявили широкий спектр бактерий и грибов из разных таксономических групп, многие из которых способствуют росту растений (Lugtenberg, Kamilova, 2009). Среди группы растительно-стимулирующих ризобактерий широко представлен род *Pseudomonas*. Он содержит более сотни видов аэробных бактерий, принадлежащих к подклассу *Proteobacteria*. Многие из них защищают растения путем антагонизма почвенных патогенов через конкуренцию за питательные вещества, выделяя противомикробные соединения, которые эффективны против широкого спектра патогенов, в том числе паразита заразики (Pieterse et al., 2014).

Важными эндогенными соединениями, характеризующимися широким спектром физиологического действия в растениях, в котором особое место занимают антистрессовый эффект в ответ на разнообразные неблагоприятные факторы среды и защита клетки от множества грибковых, бактериальных, вирусных заболеваний и цветкового паразита заразики, считаются также салициловая и жасмоновая кислоты (Gonsior et al., 2004). Из числа недостатков салициловой кислоты как биогенного элиситора, не позволивших перейти к ее коммерческому использованию, весьма перспективны абиогенные (синтезированные) элиситоры. Элиситоры – это вещества, выделяющиеся из клеточных стенок патогенных организмов (например, грибов, бактерий) или разрушающихся стенок растительных клеток. Элиситоры могут взаимодействовать со специальными белками-рецепторами, расположенными на мембране растительных клеток. Эти рецепторы способны распознавать молекулярную структуру элиситоров (паттерн) и запускать внутриклеточную защитную реакцию через сигнальный каскад. Такая реакция приводит к усиленному синтезу метаболитов, которые уменьшают повреждения и повышают устойчивость к вредителям, патогенам или абиотическому стрессу. Подобный иммунный ответ, индуцируемый молекулярными структурами (паттернами), ассоциированными с патогеном, обозначается в англоязычной литературе как РТИ (pattern triggered immunity) (Bigeard et al., 2015).

Салициловая и жасмоновая кислоты являются сигнальными молекулами, образующимися в растениях при контакте с патогенами, механизм защитного действия которых связан с индукцией генерации активных форм кислорода (АФК; реактивные формы кислорода – РФК, *англ.* reactive oxygen species – ROS), включающих ионы кислорода, свободные радикалы и перекиси. АФК активируют экспрессию генов патоген-индуцируемых защитных белков (PR-белки) при реализации локального и системного иммунитета. Накопление перекиси водорода и других ROS определяет несколько функций в защитных механизмах растений: 1) запуск локальной гибели гиперчувствительных клеток; 2) усиление прямой антимикробной активности; 3) укрепление клеточной стенки растений за счет лигнификации через окисление фенольных соединений; 4) сигнальная функция для индукции генов, контролирующей защиту в окружающих тканях (Ranf et al., 2011).

Большой интерес среди синтезированных элиситоров представляет 2,6-дихлоризоникотиновая кислота и ее метиловый эфир, обозначенные как INA. Подобно салициловой кислоте, они вызывают системную устойчивость (SAR) к бактериальным, грибным и вирусным болезням, индуцируют синтез PR-белков, а также активируют защитные реакции подсолнечника на внедрение заразики и приводят к одревеснению эндодермы и, как следствие, торможению проникновения гаусторий семян заразики через клеточную стенку клеток корня (Kusumoto et al., 2007).

Сходным с INA эффектом обладают и пиразолкарбоксикислоты. Преимуществом 3-хлор-1-метил-1-Н-пиразол-5-карбоксикислоты (СМРА) является хорошая растворимость в воде и полное отсутствие фитотоксичности. Большие надежды возлагают на S-метиловый эфир бензо[1,2,3]тиадиазол-7-карбоновой кислоты (benzothiadiazole). Это эффективный индуктор устойчивости ко многим патогенным микроорганизмам, включая вирусы, бактерии, грибы и заразику. На рынке средств защиты растений он известен под общим названием ацибензолар-S-метил (acibenzolar-S-methyl) и под торговыми марками Actigard, Bion 50WG, Blockade, Boost (Кириченко, 2017). Конечно, эффективность действия ацибензолар-S-метила, как и других индукторов системной устойчивости, содержащих липиды (ненасыщенные жирные кислоты), аминоксахара (хитин), пептиды (бактериальный белок харпин, белок холодового шока), зависит от многих факторов: дозы, вида и сорта растения, стадии развития, климатических условий и срока применения. Однако использование препарата в сочетании с методами селекции и генетической инженерии перспективно с позиции увеличения устойчивости растений к заразику.

В настоящее время проблема вредоносности заразики актуальна во всем мире. Исследования ареала распространения паразита, определение его расового состава и разработка мер по ограничению вредного воздействия заразики – необходимые мероприятия для стабилизации и повышения урожайности подсолнечника.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Антонова Т.С. Развитие гаусторий заразики подсолнечной в корнях иммунных и поражаемых форм подсолнечника. Ботан. журн. 1978;7:1025-1029.
- Антонова Т.С., Арасланова Н.М., Рамазанова С.А., Гучетль С.З., Челюстникова Т.А. Вирулентность заразики, поражающей подсолнечник, в Волгоградской и Ростовской областях. Маслич. культуры. Науч.-техн. бюл. Всерос. НИИ масличных культур. 2011;1:127-130.
- Арасланова Н.М., Антонова Т.С., Рамазанова С.А., Гучетль С.З., Челюстникова Т.А. Прорастание семян *Orobancha cumana* Wallr. под воздействием корневых выделений культур, не являющихся ее хозяевами. Маслич. культуры. Науч.-техн. бюл. Всерос. НИИ масличных культур. 2011;1:130-134.
- Барцинский Р.М. К вопросу физиологии прорастания семян заразики «злой» Донской. Маслич. культуры. 1932;2:42-47.
- Бейлин И.Г. О взаимоотношениях *O. cumana* и подсолнечника. Растение и среда. 1940;1:175-192.
- Бейлин И.Г. Цветковые полупаразиты и паразиты. М.: Наука, 1968.
- Бурлов В.В., Бурлов В.В. Ефективність генів Ог у забезпеченні стійкості соняшнику до нових рас вовчка (*Orobancha cumana* Wallr.). Селекція і насінництво. 2010;98:28-37.
- Бурлов В.В., Костюк С.В. Наследование устойчивости к местной расе заразики (*Orobancha cumana* Wallr.) у подсолнечника. Генетика. 1976;12(2):44-51.
- Гончаров С.В., Антонова Т.С., Арасланова Н.М., Рыженко Е.Н. Селекция гибридов подсолнечника на устойчивость к новым расам заразики. Маслич. культуры. Науч.-техн. бюл. Всерос. НИИ масличных культур. 2012;1:9-12.
- Гучетль С.З., Челюстникова Т.А., Арасланова Н.М., Антонова Т.С. Маркирование гена устойчивости *Or5* к расе Е заразики *Orobancha cumana* Wallr. в линиях подсолнечника селекции ВНИИМК. Маслич. культуры. Науч.-техн. бюл. Всерос. НИИ масличных культур. 2012;2:157-163.
- Задорожна О.А. Ідентифікація у соняшнику гену стійкості до вовчка *Or5* за допомогою молекулярних маркерів. Аграрний вісник Причорномор'я. 2012;61:23-27.
- Кириченко А. Біологічні методи боротьби з вірусами рослин. Пропозиція. Біозахист та біопрепарати – актуальна перспектива. 2017;42-46.
- Ничипорович А.А. К физиологии Донской заразики. Изв. по опытному делу Дона и Сев. Кавказа. 1929;15:237-247.
- Плачек Е.М. Иммуитет подсолнечника к поражению заразой. Изв. Саратов. обл. с.-х. опытной станции. 1921;3:65-82.
- Пустовойт В.С. Избранные труды: Селекция. Семеноводство и некоторые вопросы агротехники подсолнечника. М.: Колос, 1966.
- Пустовойт В.С., Пустовойт Г.В. Селекция подсолнечника на устойчивость к заразики. Защита растений от вредителей и болезней. 1963;4:15-17.
- Пушкарева К.В. Характеристика семян разных биологических форм заразики. Бюл. Сев.-Кавк. краевой с.-х. опытной станции. 1930;306:12-16.
- Решетняк Н.В., Косогова Т.М., Ганзий Ю.А., Легкодох А.А., Фурсов В.Н., Малихин И.И. *Orobancha cumana* Wallr. в посевах подсолнечника и борьба с ней. Науковий вісник Луганського національного аграрного університету. 2012;36:107-110.
- Рихтер А.А. К физиологии заразики, поражающей подсолнечник. Учен. зап. Саратов. гос. ун-та. 1924;2:33-42.
- Украинский В.Т. О заразики на подсолнечнике и мерах борьбы с ней. Селекция и семеноводство. 1938;1:36-43.
- Хатнянский В.И. Наследование признака устойчивости подсолнечника к поражению его новым комплексом рас заразики. Бюл. науч.-техн. информ. ВНИИМК. 1982;2:3-5.
- Шрейнер Я.Ф. Подсолнечная заразики (*Orobancha cumana* Wallr.) и способы борьбы с нею. СПб., 1904.
- Albrecht H., Yoder J.L., Phillips D.A. Flavonoids promote haustoria formation in the root parasite *Triphysaria versicolor*. Plant Physiol. 1999;119:585-591.
- Bigeard J., Colcombet J., Hirt H. Signaling mechanisms in Pattern-Triggered Immunity (PTI). Mol. Plant. 2015;8(4):521-539.
- Bonfante P., Genre A. Plants and arbuscular mycorrhizal fungi: an evolutionary-developmental perspective. Trends Plant. 2008;13:492-498.
- Bouwmeester H.J., Roux C., Lopez-Raez J.A., Bécard G. Rhizosphere communication of plants, parasitic plants and AM fungi. Trends Plant Sci. 2007;12:224-230.
- Brewer P.B., Koltai H., Beveridge C.A. Diverse roles of strigolactones in plant development. Mol. Plant. 2013;6:18-28.
- Conn C.E., Bythell-Douglas R., Neumann D., Yoshida S., Whittington B., Westwood J.H., Shirasu K., Bond C.S., Dyer K.A., Nelson D.C. Convergent evolution of strigolactone perception enabled host detection in parasitic plants. Science. 2015;349:540-543.
- East R. Soil science comes to life. Nature. 2013;501:8-19.
- Evidente A., Andolfi A., Fiore M., Boari A., Vurro M. Stimulation of *Orobancha ramosa* seed germination by fusicoccin derivatives: a structure-activity relationship study. Phytochemistry. 2006;67:19-26.
- Fernández-Aparicio M., Pérez-de-Luque A., Prats E., Rubiales D. Variability of interactions between barrel medic (*Medicago truncatula*) genotypes and *Orobancha* species. Ann. Appl. Biol. 2008;153:117-126.
- Fernández-Martínez J.M., Domínguez J., Pérez-Vich B. Update on breeding for resistance to sunflower broomrape. Helia. 2008;31:73-84.
- Gomez-Roldan V., Fermas S., Brewer P.B., Puech-Pagès V., Dun E.A., Pillot J.P., Letisse F., Matusova R., Danoun S., Portais J.-C., Bouwmeester H., Bécard G., Beveridge C.A., Rameau C., Rochange S.F. Strigolactone inhibition of shoot branching. Nature. 2008;455:189-194.
- Gonsior G., Buschmann H., Szinicz G., Spring O., Sauerborn J. Induced resistance – an innovative approach to manage branched broomrape (*Orobancha ramosa*) in hemp and tobacco. Weed Sci. 2004;52:1050-1053.
- Hallmann J. Plant Interactions with Endophytic Bacteria. In: M.J. Jeger, N.J. Spence (Eds.). Biotic Interactions in Plant-Pathogen Associations. N. Y.: CABI Publ., 2001: 87-119.
- Hemissi I., Mabrouk Y., Abdi N., Bouraoui M., Saidi M., Sifi B. Growth promotion and protection against *Orobancha foetida* of chickpea (*Cicer arietinum*) by two *Rhizobium* strains under greenhouse conditions. Afr. J. Biotechnol. 2013;12:1371-1377.
- Kaya Y., Evci Y., Pekcan V., Gucer T. Determining new broomrape infested areas, resistant lines and hybrids in Trakya region of Turkey. Helia. 2004;27:211-218.
- Koch L. Die Entwicklungs geschichte der Orobanchen mit besonderer Berücksichtigung ihrer Beziehungen zu den Kulturpflanzen. Heidelberg, 1887.
- Kusumoto D., Goldwasser Y., Xie X., Yoneyama K., Takeuchi Y. Resistance of red clover (*Trifolium pratense*) to the root parasitic plant *Orobancha minor* is activated by salicylate but not by jasmonate. Ann. Bot. 2007;100:537-544.
- López-Raez J.A., Charnikhova T., Fernandez I., Bouwmeester H., Pozo M.J. Arbuscular mycorrhizal symbiosis decreases strigolactone production in tomato. J. Plant Physiol. 2011;168:294-297.
- Louarn J., Carbonne F., Delavault P., Bécard G., Rochange S. Reduced germination of *Orobancha cumana* seeds in the presence of Arbuscular Mycorrhizal fungi or their exudates. PLoS One. 2012;7(11):1-10.
- Lugtenberg B., Kamilova F. Plant-growth-promoting rhizobacteria. Annu. Rev. Microbiol. 2009;63:541-556.
- Ma Y., Jia J.N., An Y., Wang Z., Mao J.C. Potential of some hybrid maize lines to induce germination of sunflower broomrape. Crop Sci. 2012;53:260-270.
- Ma Y., Shui J., Inanaga S., Cheng J. Stimulatory effects of *Houttuynia cordata* Thunb. on seed germination of *Striga hermonthica* (Del.) Benth. Allelopathy J. 2005;15:49-56.
- Melero-Vara J.M., Domínguez J., Fernandez-Martínez J.M. Update on sunflower broomrape situation in Spain: racial status and sunflower breeding for resistance. Helia. 2000;23:45-55.
- Metzger J. The promotion of germination of dormant weed seeds by substituted phthalimides and gibberellic acid. Weed Sci. 1983;31:285-289.

- Mwakaboko A.S., Zwanenburg B. Strigolactone analogs derived from ketones using a working model for germination stimulants as a blueprint. *Plant Cell Physiol.* 2011;52:699-715.
- Pieterse C.M.J., Zamioudis C., Berendsen R.L., Weller D.M., Van Wees S.C.M., Bakker P. Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Ann. Rev. Phytopathol.* 2014;52:347-375.
- Ranf S., Eschen-Lippold L., Pecher P., Lee J., Scheel D. Interplay between calcium signalling and early signalling elements during defence responses to microbe- or damage-associated molecular patterns. *Plant J.* 2011;68(1):100-113.
- Reinhardt D. Programming good relations: development of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2007;10: 98-105.
- Sands D.C., Pilgeram A.L. Methods for selecting hypervirulent bio-control agents of weeds: why and how? *Pest Manag. Sci.* 2009;65: 581-587.
- Shindrova P. Broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in Bulgaria distribution and race composition. *Helia.* 2006;29:111-120.
- Thorogood C.J., Hi S.J. Compatibility interactions at the cellular level provide the basis for host specificity in the parasitic plant *Orobanche*. *New Phytol.* 2010;186:571-575.
- Velasco L., Pérez-Vich B., Jan C.C., Fernández-Martínez J.M. Inheritance of resistance to broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) race F in a sunflower line derived from wild sunflower species. *Plant Breed.* 2007;126:67-71.
- Vurro M., Boari A., Evidente A., Andolfi A., Zermane N. Natural metabolites for parasitic weed management. *Pest Manag. Sci.* 2009;65: 566-571.
- Waters M.T., Scaffidi A., Moulin S.L., Sun Y.K., Flematti G.R., Smith S.M. A *Selaginella moellendorffii* ortholog of KARRIKIN INSENSITIVE2 functions in *Arabidopsis* development but cannot mediate responses to karrikins or strigolactones. *Plant Cell.* 2015; 27:1925-1944.
- Yoneyama K., Xie X., Kisugi T., Nomura T., Sekimoto H., Yokota T., Yoneyama K. Characterization of strigolactones exuded by Asteraceae plants. *Plant Growth Regul.* 2011;65:495-504.

Информационная система по биоресурсным коллекциям институтов ФАНО России

С.А. Лашин^{1, 2}, Д.А. Афонников^{1, 2}✉, М.А. Генаев¹, Ф.В. Казанцев^{1, 2}, Е.Г. Комышев¹, Е.А. Ощепкова¹, А.В. Петров², Д.А. Рассказов¹, А.А. Смирнова¹, Н.А. Колчанов^{1, 2}

¹ Федеральное исследовательское учреждение Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

При изучении живого разнообразия большую роль играют биоресурсные коллекции – систематизированные хранилища биологического материала в любых комбинациях и формах. Содержимое коллекций, как правило, формировалось в течение нескольких сотен лет и описывает огромное количество образцов, исчисляемое миллиардами. Большие усилия направлены на сохранение этого материала, а также получение новых образцов. Российская Федерация занимает огромную территорию суши, имеет протяженную береговую линию и богатые природные ресурсы, разнообразие природно-экологических зон. В связи с этим ее территория является уникальной для сбора материала биологических коллекций. В настоящее время в России развивается большое количество биоресурсных коллекций (БРК), однако существует ряд трудностей, связанных, прежде всего, с отсутствием единого информационного ресурса по таким коллекциям. В целях развития научной инфраструктуры Федеральное агентство научных организаций (ФАНО России) проводит работу по формированию единых подходов к использованию существующих БРК и созданию единой информационной системы для их поддержки. В статье представлены результаты разработки информационного портала, призванного обеспечить унифицированные методы работы по всем БРК организаций ФАНО России – ввод, хранение, актуализацию и разграниченный доступ к специфической информации о единицах хранения и их характеристиках. Информационная система «Биоресурсные коллекции научных организаций» (ИС БРК) разработана в виде Интернет-портала (www.biores.cytogen.ru), интегрирующего базы данных (БД) биоресурсных коллекций ФАНО России и графический интерфейс пользователя. Управление доступом к базам данных, интегрируемым в ИС БРК, осуществляется через программный интерфейс для просмотра записей, их создания и редактирования на основе технологии REST. Графический интерфейс пользователя предоставляет следующие возможности в соответствии с правами доступа к БД БРК: авторизованный доступ; просмотр записей; редактирование записей; создание и удаление записей; статистический анализ данных; генерация сводных отчетов; экспорт содержимого записей в формате PDF/RTF/JSON. Графический интерфейс пользователя реализован с применением инструментария и библиотек DRUPAL 7.0. Архитектурно портал представляет собой центральный узел с серией модулей, взаимодействующих через унифицированные программные интерфейсы. Таким образом решается задача подключения новых источников данных (баз коллекций), реализованных на разных системах управления базами данных. С учетом того что в настоящее время многие организации поддерживают

An integrated information system on bioresource collections of the FASO of Russia

S.A. Lashin^{1, 2}, D.A. Afonnikov^{1, 2}✉, M.A. Genaev¹, F.V. Kazantsev^{1, 2}, E.G. Komyshev¹, E.A. Oschepkova¹, A.V. Petrov², D.A. Rasskazov¹, A.A. Smirnova¹, N.A. Kolchanov^{1, 2}

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia
Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

Biological collections play a huge role in studying biological diversity as systematic storages of biological materials in all combinations and forms. Collection materials have generally been formed over hundreds of years and may describe a vast number of samples counted by billions. Great efforts are made to preserve these materials, as well as to obtain more and more samples. The Russian Federation occupies a huge land area, has a long coastline and huge natural resources, a variety of natural and ecological zones. In this regard, its territory is unique from the viewpoint of biodiversity and development of biological collections. Currently, a large number of collections are being developed in Russia, but there are a number of problems associated, first of all, with the lack of an integrated information resource on bioresource collections (BRC). In order to support the development of scientific infrastructure, the Federal Agency for Scientific Organizations (FASO of Russia) has been working on the development of unified approaches to the use of existing bioresource collections and the establishment of the integrated information system. The paper presents an information portal designed to provide uniform methods of work for all BRC organizations of the FASO of Russia: input, storage, updating and differentiated access to specific information about storage units and their characteristics. The information system “Bioresource Collections of Scientific Organizations” (IS BRC) has been developed as a Web-portal (www.biores.cytogen.ru) integrating databases on bioresource collections of the FASO of Russia and graphical user interface. Access control to the databases integrated into the IS BRC is performed through authorized program access for viewing records, their creation and editing on the basis of REST technology. The graphical user interface (GUI) provides the following features in accordance with the access rights: authorized access to the BRC database; viewing BRC database records; editing BRC database records; creating and deleting BRC database records; statistical data analysis in the BRC database; generation of summary reports on the BRC database; export of records content in PDF/RTF/JSON format. The graphical user interface was implemented using the DRUPAL 7.0 toolkit. Architecturally, the portal is concerned as a central node

доступ к каталогам своих коллекций самостоятельно, на портале указываются внешние ссылки на эти ресурсы. В то же время часть информации по коллекциям хранится в базах данных портала БРК ФАНО России в унифицированных форматах. Портал содержит следующие функциональные разделы: главная страница с общей информацией по биоресурсным коллекциям; каталог коллекций; индивидуальные страницы отдельных коллекций с их описанием (информация о кураторе; статистическая информация о числе единиц хранения в коллекции и числе публикаций, а также ссылка на каталог единиц хранения данной БРК). В настоящее время портал содержит описание более чем 13 тыс. единиц хранения 65 биоресурсных коллекций организаций ФАНО России, ведется его активное наполнение.

Ключевые слова: базы данных (БД); информационный портал; биоресурсная коллекция (БРК).

with a series of modules communicating through the unified interfaces. In this way, we solve the problem of connecting new data sources (collection databases) implemented in different DBMS. Given the fact that currently many organizations support access to the catalogues of their collections independently, the portal also provides external links to these Web resources. At the same time, some information on collections is stored within the BRC databases of the FASO of Russia's portal in unified formats. The portal contains the following functional sections: the home page containing general information on bioresource collections, the catalog of collections, individual pages for each particular collection with a short description (information about curators, statistical information about the number of storage units in the collection and the number of publications, as well as a link to the catalog of storage units of this BRC). Currently the portal contains more than 13 thousand entities of 65 bioresource collections organizations of the FASO of Russia. It is still being extended.

Key words: database; informational portal; bioresource collection (BRC).

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Лашин С.А., Афонников Д.А., Генаев М.А., Казанцев Ф.В., Комышев Е.Г., Ощепкова Е.А., Петров А.В., Рассказов Д.А., Смирнова А.А., Колчанов Н.А. Информационная система по биоресурсным коллекциям институтов ФАНО России. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(3):386-393. DOI 10.18699/VJ18.360

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Lashin S.A., Afonnikov D.A., Genaev M.A., Kazantsev F.V., Komyshev E.G., Oschepkova E.A., Petrov A.V., Rasskazov D.A., Smirnova A.A., Kolchanov N.A. An integrated information system on bioresource collections of the FASO of Russia. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(3):386-393. DOI 10.18699/VJ18.360 (in Russian)

Биологические коллекции (систематизированные хранилища биологического материала в любых комбинациях и формах) играют большую роль для документирования разнообразия живых организмов (Kamenski et al., 2016). Материалы коллекций, как правило, формировались в течение нескольких сотен лет и описывают огромное количество образцов, которое в мировом масштабе исчисляется миллиардами (Krishtalka, Humphrey, 2000).

Создание и поддержание коллекций направлено на решение ряда фундаментальных и прикладных задач, среди которых систематика и таксономия организмов (Wen et al., 2015), моделирование экологических ниш (Anderson, 2012) и биогеография (Gillespie, 2013). Коллекции микроорганизмов – важный элемент инфраструктуры научных исследований и промышленных разработок в области биотехнологий и пищевой индустрии (Boundy-Mills, 2012). Биобанки тканей и клеточных культур человека используются в области фундаментальной медицины для изучения механизмов возникновения заболеваний, создания и проверки лекарственных препаратов (Asslauer, Zatloukal, 2007). Коллекции сельскохозяйственных растений успешно применяются для селекции сортов и линий культурных растений, интродукции новых культур (Guevas et al., 2017; Wang et al., 2017). Биоресурсные коллекции (БРК) активно используются в образовании (Cook et al., 2014). Их актуальность в решении научных и прикладных задач осознана относительно недавно, что в итоге привело к бурному росту работ по систематическому пополнению, каталогизации и оцифровке БРК (Smith, Blagoderov, 2012; Павлинов, 2016).

Важным направлением работ с биоматериалами коллекций является их компьютерный учет. В связи с этим

интенсивно развиваются компьютерные методы описания образцов, создаются системы баз данных (БД) для хранения информации и быстрого доступа к ней (Beaman, Cellinese, 2012; Guralnick et al., 2016), разрабатываются форматы, протоколы и технологии открытого доступа к информации по биологическому разнообразию (Лобанов и др., 2008; Wiczorek et al., 2012; Robertson et al., 2014). В результате обеспечивается быстрый доступ к информации о биологическом разнообразии в мировом масштабе.

Территория Российской Федерации уникальна в отношении разнообразия биологического материала и формирования биологических коллекций. В настоящее время в России развивается большое количество коллекций (Kamenski et al., 2016; Ivanova, Shashkov, 2017), однако при этом существует ряд трудностей, связанных, прежде всего, с отсутствием единого информационного ресурса по биологическим коллекциям.

С целью развития научной инфраструктуры Федерального агентства научных организаций (ФАНО) России проводится работа по формированию единых подходов к использованию существующих биоресурсных коллекций и созданию единой информационной системы для их поддержки.

В настоящее время в различных организациях ФАНО имеется более 65 коллекций общим объемом более 1 млн единиц хранения по пяти направлениям – коллекции: микроорганизмов, клеточных культур, животных, растений, гербарных образцов. Имеющиеся коллекции интенсивно используются в фундаментальных и прикладных научных исследованиях. Однако работа с ними затруднена по причинам разнородного характера данных и отсутствия общей точки доступа к информации по коллекциям,

универсального формата, систематизированных данных по составу материала коллекции. В России нет единого ресурса, способного интегрировать базы данных по коллекциям микроорганизмов, водорослей, культур клеток, сельскохозяйственных растений, гербарных образцов, животных и биологических материалов человека в унифицированных форматах.

В нашей статье представлены результаты работы по созданию информационного портала, призванного обеспечить унифицированные методы доступа по всем БРК организаций ФАНО России: ввод, хранение, актуализация и разграниченный доступ к специфической информации о единицах хранения и их характеристиках.

Материалы и методы

Информационная система «Биоресурсные коллекции научных организаций» (ИС БРК) разработана в виде Интернет-портала (www.biores.cytogen.ru), интегрирующего базы данных биоресурсных коллекций ФАНО России (БД БРК) и графический интерфейс пользователя (ГИП).

С учетом того что в настоящее время многие научные организации России поддерживают доступ к каталогам своих коллекций самостоятельно, на портале также указаны внешние ссылки на эти ресурсы. В то же время часть информации по коллекциям хранится в собственных базах данных портала в унифицированных форматах. Эти базы данных реализованы на системах управления базами данных (СУБД) PostgreSQL и MySQL.

Управление доступом к БД, интегрируемым в ИС БРК, осуществляется через авторизованный программный доступ (API) для просмотра записей, их создания и редактирования на основе технологии REST.

Графический интерфейс пользователя предоставляет следующие возможности в соответствии с правами доступа: авторизованный доступ к БД БРК, просмотр, редактирование, создание и удаление записей, статистический

анализ данных, генерация сводных отчетов по БД БРК; экспорт содержимого записей в формате PDF/RTF/JSON. ГИП реализован с помощью инструментария и библиотек DRUPAL 7.0 (<https://www.drupal.org/home>).

При проектировании общей архитектуры ИС БРК (рис. 1) было принято решение о разделении модулей хранения информации (СУБД и модули доступа к БД посредством REST API), ГИП ИС БРК (модули отображения отдельных БРК и отдельных единиц хранения, редактирования и добавления) и системы управления пользователями. Архитектурно портал представляет собой центральный узел с серией модулей, взаимодействующих через унифицированные интерфейсы. Таким образом решается задача подключения новых источников данных (баз коллекций), реализованных на разных СУБД.

Выбранная архитектура позволяет добавлять новые типы БД БРК, не меняя общей структуры ИС БРК.

Результаты

Портал «Биоресурсные коллекции научных организаций»

Портал ИС БРК содержит следующие функциональные разделы:

- 1) главная страница: содержит информацию об ИС БРК (рис. 2);
- 2) каталог коллекций: содержит ссылки на индивидуальные страницы отдельных БРК, разбитых на разделы согласно направлениям (коллекции микроорганизмов, культур клеток, растений и животных, гербарных образцов). Индивидуальные страницы отдельных БРК содержат описание коллекции, информацию о кураторе, статистическую информацию о числе единиц хранения в коллекции и числе публикаций, а также ссылку на каталог единиц хранения данной БРК. Отображение единицы хранения приведено на рис. 3 на примере БРК клеточных культур ИЦиГ СО РАН;

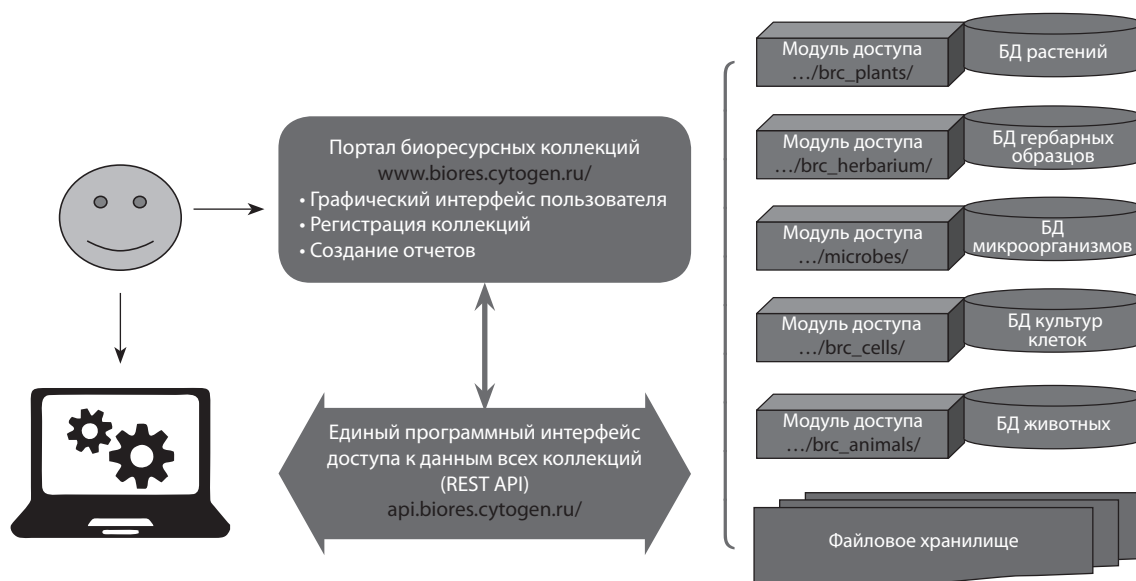


Рис. 1. Общая архитектура ИС БРК.

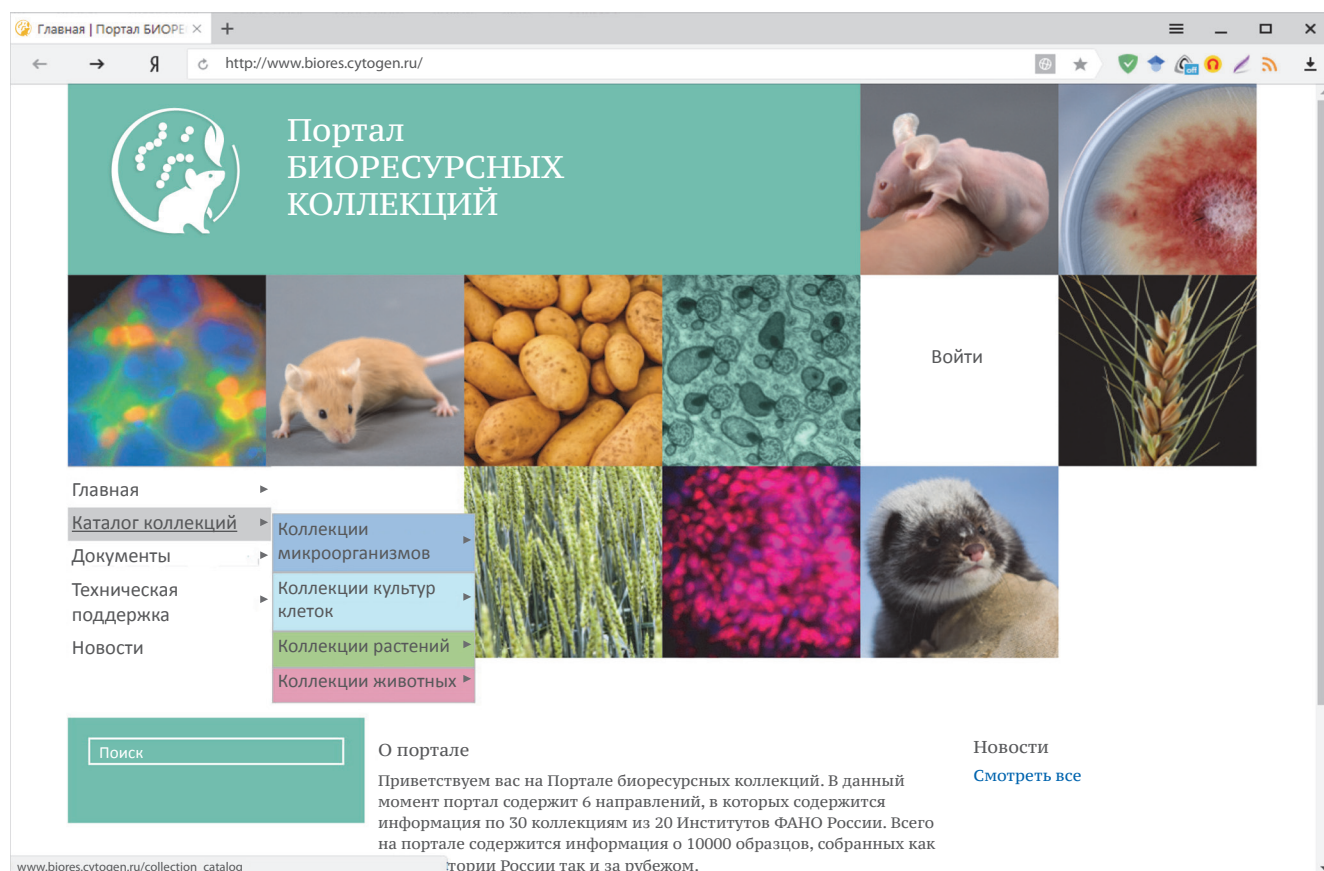


Рис. 2. Главная страница портала ИС БРК (www.biores.cytogen.ru).

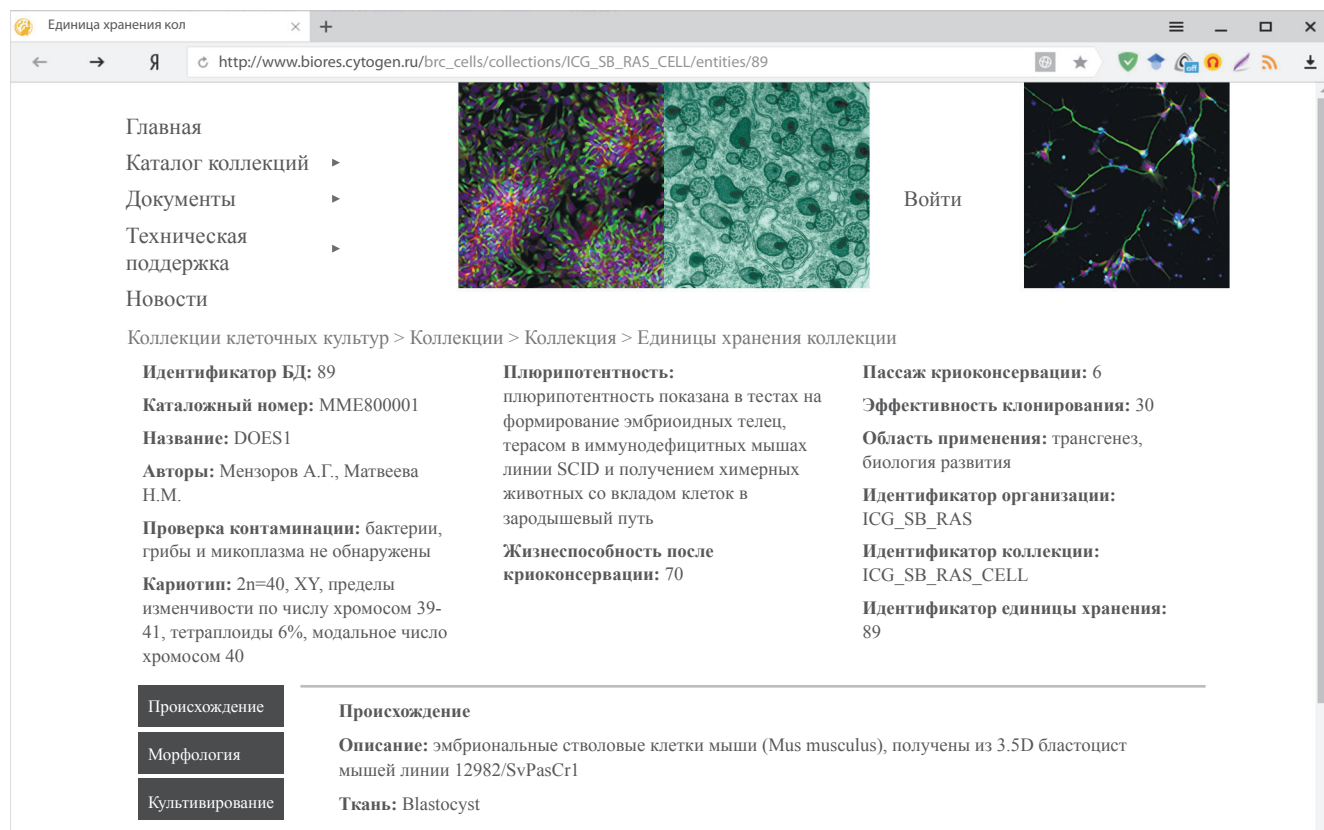


Рис. 3. Визуализация характеристик единицы хранения на примере БРК клеточных культур ИЦиГ СО РАН.

Адреса страниц с описанием формата REST запросов
к БД портала БРК

Адрес страницы	Коллекция
http://api.biores.cytogen.ru/microbes	Микроорганизмы
http://api.biores.cytogen.ru/brc_plants	Растения
http://api.biores.cytogen.ru/brc_animals	Животные
http://api.biores.cytogen.ru/brc_cells	Культуры клеток
http://api.biores.cytogen.ru/brc_herbarium	Гербарные образцы

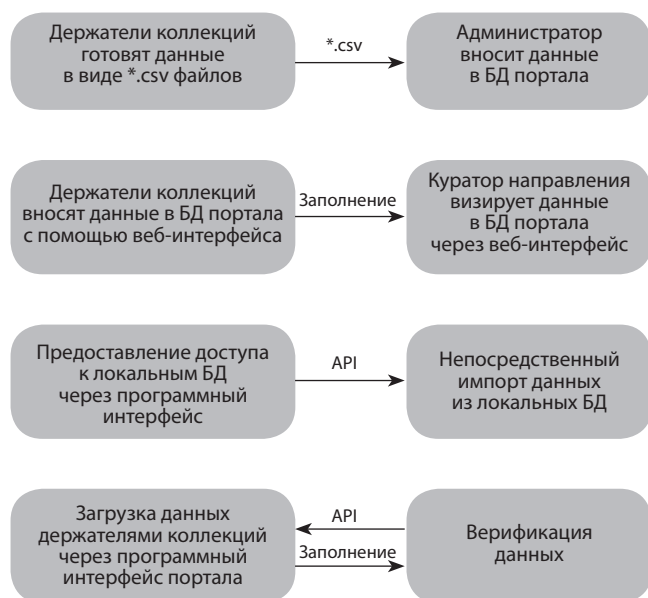


Рис. 4. Способы пополнения БД ИС БРК.

- 3) документы: содержит ссылки на нормативные документы, паспорта коллекций и подсистему финансовой модели;
- 4) техническая поддержка: содержит ссылки для поддержки обратной связи с пользователями;
- 5) новости: содержит новости ИС БРК.

Базы данных биоресурсных коллекций

В рамках портала были реализованы следующие БД БРК:

- микроорганизмы (включая БД водорослей и грибов);
- культуры клеток;
- растения;
- гербарные образцы;
- животные.

Форматы описания единиц хранения были унифицированы для вышеперечисленных типов БРК совместно с экспертными группами соответствующих направлений. БД реализованы в СУБД PostgreSQL и MySQL. Взаимодействие БД с ГИП ИС БРК осуществляется посредством REST-запросов к модулям, предоставляющим унифицированный доступ к БД. Данные передаются в формате JSON. Кроме того, все БД ИС БРК предоставляют унифицированный программный доступ (API) для информационных запросов (таблица).

Описание единиц хранения в БД БРК можно добавлять следующим образом (рис. 4): ручное внесение данных через ГИП ИС БРК; автоматическое внесение администраторами ИС БРК данных, подготовленных держателями БРК в установленном формате; импорт данных из внешних БД держателей БРК посредством согласования API (в каждом случае решается в индивидуальном порядке).

Управление пользователями

Подсистема «управления пользователями» в ИС БРК реализована на основе функционала аутентификации, авторизации CMS Drupal и правил разграничения прав доступа по ролям. Разграничение прав доступа для различных ролей проводилось по типам материалов, механизмам управления маршрутами и распределению разрешений CMS Drupal.

В системе были определены следующие роли: незарегистрированный (анонимный) пользователь, куратор коллекции, редактор коллекции, администратор БД БРК, администратор БД БРК экспертной группы, администратор портала БД БРК, администратор портала. Пользователям назначены наборы разрешений на авторизованные действия, такие как «доступ к закрытым страницам коллекций», «разрешение редактировать описание коллекции», «разрешение редактировать единицы хранения коллекций», путем присвоения им соответствующих ролей. Для интегрированных коллекций создана структура страниц краткого описания коллекций (тип материала: «описание коллекции»). В данных структурах для каждой коллекции указаны соответствующие пользователи, имеющие авторизованный доступ к ним. Для маршрутов, осуществляющих взаимодействие с интегрированными БД посредством программного интерфейса, установлены соответствующие требования к разрешениям на авторизованные действия. Тип доступа (чтение, внесение, редактирование, удаление) определяется ролью пользователя. Разрешение на авторизованное действие с данными конкретной коллекции определяет модуль, проверяющий, указан ли запрашивающий действие пользователь в структуре коллекции и имеет ли он соответствующие разрешения, требуемые запрашиваемым маршрутом.

Таким образом, авторизованный доступ к коллекциям и сопутствующим страницам имеют только пользователи с соответствующей ролью. При этом этот доступ разрешен только в случае, если пользователь указан в структуре описания коллекции как пользователь, являющийся куратором, редактором, администратором данной коллекции, БД или портала.

Карточка каждой коллекции на портале содержит следующую информацию: контактные данные организации-держателя, контактные данные куратора коллекции, сводная статистика по наполнению коллекции, список публикаций, ассоциированных с единицами хранения, а также сам каталог коллекции.

Для того чтобы разместить на портале информацию о новой коллекции, необходимо связаться с кураторами портала для регистрации коллекции по установленной форме. После регистрации доступно несколько вариантов пополнения коллекции на портале:

- 1) ввод информации по каждой единице хранения вручную через формы на портале;
- 2) ввод информации по всей коллекции, оформленной по заранее согласованному формату.

Каждая запись единицы хранения представляет собой форму, содержащую набор ключевых характеристик, соответствующих направлению коллекции. Для каждой записи могут быть указаны публикации, в которых содержится информация об исследованиях, связанных с данным образцом. Каждая карточка поддерживает возможность введения информации в графическом виде (файлы изображений, иллюстрации, графики) с текстовым описанием содержимого. В качестве дополнительной информации могут служить фотографии колоний, масс-спектры, фотографии гелей, изображения животных и т. д.

В рамках портала контроль за актуальностью и корректностью представленных данных отвечает группа экспертов и кураторов по соответствующим направлениям.

Работа с порталом

Доступ к информации о коллекциях на портале через интернет-браузер может осуществляться несколькими путями. Полный список коллекций с указанием названия, раздела и организации держателя доступен в разделе портала «Каталог коллекций» (http://www.biores.cytogen.ru/portal_collections). Переход на страницу коллекции можно осуществлять через выпадающее меню (см. рис. 2).

Доступ к информации о коллекциях на портале унифицирован. Структура адресов Web-страниц представляет собой естественную иерархию – от общего к частному. Эта иерархия отражается в уровнях адресов портала. Первый уровень иерархии соответствует главной странице портала – основной точке входа на портал. Информация по этому адресу включает структуру портала и ссылки на каталог коллекций (<http://www.biores.cytogen.ru/>).

Второй уровень иерархии позволяет работать со страницами разделов биоресурсных коллекций. Информация по направлениям доступна по адресам, заданным в виде строки http://www.biores.cytogen.ru/section_name. Здесь и далее поле названия раздела `section_name` может принимать одно из нескольких возможных значений: `microbes` – коллекции микроорганизмов; `brc_plants` – коллекции растений; `brc_animals` – коллекции животных; `brc_cells` – коллекции культур клеток; `brc_herbarium` – гербарные коллекции. По соответствующим адресам доступны страницы со сводной информацией: количество коллекций и организаций держателей; совокупное количество единиц хранения по разделу; совокупное количество публикаций, ассоциированных с единицами хранения. На этом уровне можно осуществить доступ и к информации о единицах хранения. Например, полный список единиц хранения в разделе коллекций микроорганизмов будет выдан по адресу <http://www.biores.cytogen.ru/microbes/entities>. Список – это краткое представление информации по образцам, он включает следующие основные блоки информации: название (авторское название единицы хранения); описание (краткая характеристика образца); источник (краткая характеристика места и условий сбора образца); GPS (координаты глобальной системы позиционирования

места сбора образца, если они известны); ссылки на организацию держателя коллекции и на страницу с описанием коллекции. Информация по полному списку коллекций в рамках одного из разделов доступна по адресной строке вида http://www.biores.cytogen.ru/section_name/collections. В этом списке приводится сводная информация, характеризующая каждую коллекцию в разделе – идентификатор коллекции, количество единиц хранения и число публикаций.

Интересной функцией является возможность получить список публикаций по разделу при введении адресной строки вида: http://www.biores.cytogen.ru/section_name/publications. На соответствующей странице собраны публикации, связанные с материалами коллекций.

Следующий уровень описания информации соответствует отдельной коллекции и доступен по адресной строке вида http://www.biores.cytogen.ru/section_name/collections/collection_id (здесь и далее поле `collection_id` обозначает идентификатор коллекции на портале БРК, которые доступны на странице списка коллекций, описанной выше). По этому запросу отображаются статистическая информация и полный список единиц хранения данной коллекции.

Получить список всех единиц хранения конкретной коллекции можно также по адресу вида http://www.biores.cytogen.ru/section_name/collections/collection_id/entities. Получить список всех публикаций конкретной коллекции можно по адресу вида http://www.biores.cytogen.ru/section_name/collections/collection_id/publications.

Доступ к информации по конкретному образцу в коллекции осуществляется по адресу вида http://www.biores.cytogen.ru/section_name/collections/collection_id/sample_id. Данный запрос выдает полное описание характеристик единицы хранения. Структурированное описание включает список публикаций (если имеются) и набор изображений (если имеются), снабженных блоком текстового описания, отражающего важные характеристики образца. Изображения, представленные в карточке образца, доступны для загрузки.

Работа с порталом через программный интерфейс доступа

Доступ к данным портала можно осуществлять, минуя уровень графического интерфейса пользователя (т. е. Интернет-браузер). Для этих целей реализован программный интерфейс доступа (Application Programming Interface, API) по технологии REST. Такой интерфейс позволяет получать необходимую информацию при передаче на Web-сервер запроса в виде строки URL (аналогично адресу в Интернет). В ответ на запрос сервер возвращает его результат в виде текстовой страницы (файла), информация в котором структурирована по формату JavaScript Object Notation (JSON) (<http://json.org/>). Полученный текстовый файл может быть открыт любым текстовым редактором (как правило, форматирование позволяет легко читать и разбирать данный текст визуально) или же обработан одним из множества программных инструментов, в том числе программами, написанными пользователем в универсальных средах моделирования (Matlab, Scilab и др.) либо на языках высокого уровня (Python, R, C++, Java и


```
{
  "id_organization": "IVW_MAGARACH_RAS",
  "id_collection": "IVW_MAGARACH_RAS_MIC",
  "name": "коллекция микроорганизмов для виноделия «Магарач» (КМВ «Магарач»)",
  "name_eng": "коллекция микроорганизмов для виноделия «Магарач» (КМВ «Магарач»)",
  "user_id": "magarach_microbiol.lab@mail.ru",
  "entities": 115,
  "publications": 78,
  "links": [
    {
      "rel": "self",
      "href": "http://api.biores.cytogen.ru/microbes/collections/IVW_MAGARACH_RAS_MIC"
    },
    {
      "rel": "entities",
      "href": "http://api.biores.cytogen.ru/microbes/collections/IVW_MAGARACH_RAS_MIC/entities?limit=0&offset=0"
    },
    {
      "rel": "organization",
      "href": "http://api.biores.cytogen.ru/microbes/organizations/IVW_MAGARACH_RAS"
    },
    {
      "rel": "publications",
      "href": "http://api.biores.cytogen.ru/microbes/collections/IVW_MAGARACH_RAS_MIC/publications"
    }
  ]
}
```

Рис. 5. Результат REST запроса описания коллекции микроорганизмов для виноделия «Магарач».

др.) (Kazantsev et al., 2018). Адреса, по которым доступно описание формата запроса REST, приведены в таблице.

Например, если требуется получить характеристику коллекции микроорганизмов для виноделия «Магарач» (КМВ «Магарач»), то необходимо сформировать адресную строку http://api.biores.cytogen.ru/microbes/collections/IVW_MAGARACH_RAS_MIC/. В результате перехода по этому адресу будет получена страница с содержимым в виде текста, показанного на рис. 5.

В этом тексте приводятся через запятую значения полей БД коллекций микроорганизмов в формате «идентификатор_поля»: «значение». К числу полей с данными относятся: `id_organization` (идентификатор организации), `id_collection` (идентификатор коллекции), `name` (название организации), `name_eng` (название организации на английском языке), `user_id` (идентификатор представителя организации), `entities` (число единиц хранения), `publications` (число публикаций, связанных с коллекцией), означающие количество единиц хранения и публикаций в коллекции на портале соответственно.

Содержание портала

В настоящее время портал содержит описание более чем 13 тыс. единиц хранения (из них 3.5 тыс. приходится на БРК микроорганизмов) 65 биоресурсных коллекций организаций ФАНО России (12 коллекций микроорганизмов с суммарным разнообразием фондов порядка 50000 штаммов). Ведется его активное наполнение.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке программы биоресурсных коллекций ФАНО России (№ 0324-2017-0050).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Лобанов А.Л., Смирнов И.С., Дианов М.Б., Голиков А.А., Халиков Р.Г. Эволюция стандарта ZOOCOD-концепции отражения зоологических иерархических классификаций в плоских таб-

лицах реляционных баз данных. Труды 10-й Всероссийской научной конференции «Электронные библиотеки: перспективные методы и технологии, электронные коллекции» – RCDL'2008», Дубна, Россия, 2008;326-332.

Павлинов И.Я. Биоразнообразие и биокolleкции: проблема соответствия. Сборник трудов Зоологического музея МГУ им. М.В. Ломоносова, 2016;54:733-786.

Anderson R.P. Harnessing the world's biodiversity data: promise and peril in ecological niche modeling of species distributions. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2012;1260(1):66-80. DOI 10.1111/j.1749-6632.2011.06440.x.

Asslaber M., Zatloukal K. Biobanks: transnational, European and global networks. *Brief. Funct. Genomics Proteomics.* 2007;6(3): 193-201. DOI 10.1093/bfpg/elm023.

Beaman R.S., Cellinese N. Mass digitization of scientific collections: New opportunities to transform the use of biological specimens and underwrite biodiversity science. *ZooKeys.* 2012;209:7-17. DOI 10.3897/zookeys.209.3313.

Boundy-Mills K. Yeast culture collections of the world: meeting the needs of industrial researchers. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 2012; 39(5):673-680. DOI 10.1007/s10295-011-1078-5.

Cook J.A., Edwards S.V., Lacey E.A., Guralnick R.P., Soltis P.S., Soltis D.E., Welch C.K., Bell K.C., Galbreath K.E., Himes C., Allen J.M., Heath T.A., Carnaval A.C., Cooper K.L., Liu M., Hanken J., Ickert-Bond S. Natural history collections as emerging resources for innovative education. *BioScience.* 2014;64(8):725-734. DOI 10.1093/biosci/biu096.

Cuevas H.E., Rosa-Valentin G., Hayes C.M., Rooney W.L., Hoffmann L. Genomic characterization of a core set of the USDA-NPGS Ethiopian sorghum germplasm collection: implications for germplasm conservation, evaluation, and utilization in crop improvement. *BMC Genomics.* 2017;18(1):108. DOI 10.1186/s12864-016-3475-7.

Gillespie R.G. The International biogeography society: enabling a dynamic discipline. *Front. Biogeogr.* 2013;5:1-5.

Guralnick R.P., Zermoglio P.F., Wiczorek J., LaFrance R., Bloom D., Russell L. The importance of digitized biocollections as a source of trait data and a new VertNet resource. *Database.* 2016;1-13. DOI 10.1093/database/baw158.

Ivanova N.V., Shashkov M.P. Biodiversity databases in Russia: towards a national portal. *Arctic Science.* 2016;3(3):560-576. DOI 10.1139/as-2016-0050.

Kamenski P.A., Sazonov A.E., Fedyanin A.A., Sadovnichy V.A. Biological collections: Chasing the ideal. *Acta Naturae.* 2016;8(2):6-9.

- Kazantsev F., Akberdin I., Lashin S., Ree N., Timonov V., Ratushny A., Khlebodarova T., Likhoshvai V. MAMMOTH: a new database for curated mathematical models of biomolecular systems. *J. Bioinform. Comput. Biol.* 2018;16(1):1740010. DOI 10.1142/S0219720017400108.
- Krishtalka L., Humphrey P.S. Can natural history museums capture the future? *BioScience*. 2000;50(7):611-617. DOI 10.1641/0006-3568(2000)050[0611:CNHMCT]2.0.CO;2.
- Robertson T., Döring M., Guralnick R., Bloom D., Wieczorek J., Braak K., Otegui J., Russell L., Desmet P. The GBIF integrated publishing toolkit: facilitating the efficient publishing of biodiversity data on the internet. *PLoS ONE*. 2014;9(8):e102623. DOI 10.1371/journal.pone.0102623.
- Smith V.S., Blagoderov V. Bringing collections out of the dark. *ZooKeys*. 2012;209: 1-6. DOI 10.3897/zookeys.209.3699.
- Wang C., Hu S., Gardner C., Lübberstedt T. Emerging avenues for utilization of exotic germplasm. *Trends Plant Sci.* 2017;22(7): 624-637. DOI 10.1016/j.tplants.2017.04. 002.
- Wen J., Ickert-Bond S.M., Appelhans M.S., Dorr L.J., Funk V.A. Collections-based systematics: Opportunities and outlook for 2050. *J. Syst. Evol.* 2015;53(6):477-488. DOI 10.1111/jse.12181.
- Wieczorek J., Bloom D., Guralnick R., Blum S., Döring M., Giovanni R., Robertson T., Vieglais D. Darwin core: an evolving community-developed biodiversity data standard. *PLoS ONE*. 2012;7(1): e29715. DOI 10.1371/journal.pone.0029715.

Прием статей через электронную редакцию на сайте <http://vavilov.elpub.ru/index.php/jour>
Предварительно нужно зарегистрироваться как автору, затем в правом верхнем углу страницы выбрать «Отправить рукопись». После завершения загрузки материалов обязательно выбрать опцию «Отправить письмо», в этом случае редакция автоматически будет уведомлена о получении новой рукописи.

«Вавиловский журнал генетики и селекции»/“Vavilov Journal of Genetics and Breeding”
до 2011 г. выходил под названием «Информационный вестник ВОГиС»/
“The Herald of Vavilov Society for Geneticists and Breeding Scientists”.

Регистрационное свидетельство ПИ № ФС77-45870 выдано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций 20 июля 2011 г.

«Вавиловский журнал генетики и селекции» включен ВАК Минобрнауки России в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, Российский индекс научного цитирования, ВИНТИ, базы данных Scopus, Zoological Record (Web of Science), Ebsco, DOAJ, Ulrich's Periodicals Directory, Google Scholar, Russian Science Citation Index на платформе Web of Science.

Открытый доступ к полным текстам:
на сайте ИЦиГ СО РАН – bionet.nsc.ru/vogis/
платформе Elpub – vavilov.elpub.ru/index.php/jour
платформе Научной электронной библиотеки – elibrary.ru/title_about.asp?id=32440

Подписку на «Вавиловский журнал генетики и селекции» можно оформить в любом почтовом отделении России. Индекс издания 42153 по каталогу «Пресса России».

При перепечатке материалов ссылка на журнал обязательна.

✉ e-mail: vavilov_journal@bionet.nsc.ru

Издатель: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук»,
проспект Академика Лаврентьева, 10, Новосибирск, 630090.

Адрес редакции: проспект Академика Лаврентьева, 10, Новосибирск, 630090.

Секретарь по организационным вопросам С.В. Зубова. Тел.: (383)3634977.

Издание подготовлено информационно-издательским отделом ИЦиГ СО РАН. Тел.: (383)3634963*5218.

Начальник отдела: Т.Ф. Чалкова. Редакторы: В.Д. Ахметова, И.Ю. Ануфриева. Дизайн: А.В. Харкевич.

Компьютерная графика и верстка: Т.Б. Коняхина, О.Н. Савватеева.

Подписано в печать 10.05.2018. Выход в свет 30.05.2018. Формат 60 × 84 1/8. Усл. печ. л. 12,09.

Уч.-изд. л. 13,9. Тираж 150 экз. Заказ № 101. Цена свободная.

Отпечатано в типографии ФГУП «Издательство СО РАН», Морской проспект, 2, Новосибирск, 630090.