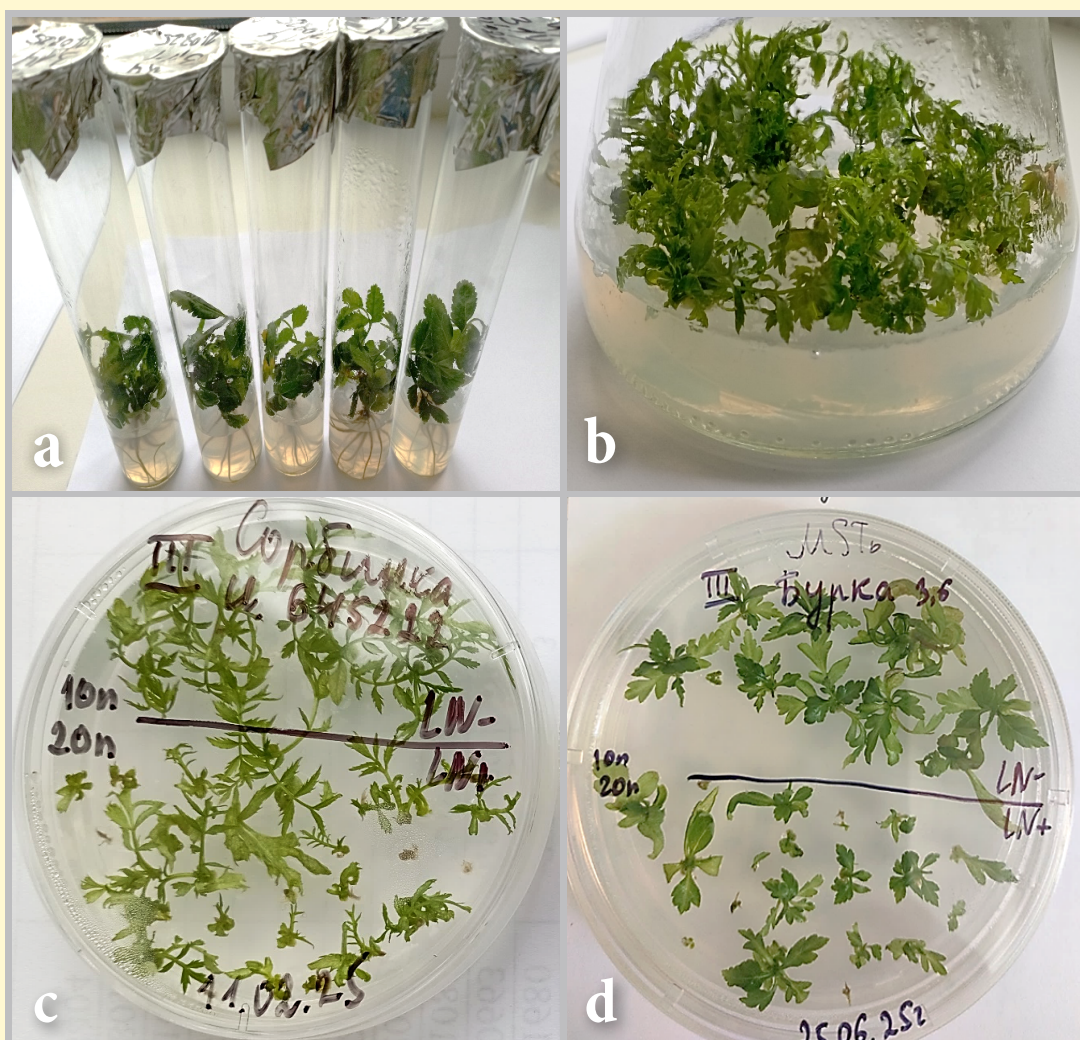


# БИОТЕХНОЛОГИЯ И СЕЛЕКЦИЯ РАСТЕНИЙ

8(3), 2025



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО  
ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
ВСЕРОССИЙСКИЙ ИНСТИТУТ ГЕНЕТИЧЕСКИХ  
РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ ИМЕНИ Н.И. ВАВИЛОВА (ВИР)



THE MINISTRY OF SCIENCE AND HIGHER  
EDUCATION OF THE RUSSIAN FEDERATION  
FEDERAL RESEARCH CENTER  
THE N.I. VAVILOV ALL-RUSSIAN INSTITUTE OF  
PLANT GENETIC RESOURCES (VIR)

НАУЧНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

# БИОТЕХНОЛОГИЯ И СЕЛЕКЦИЯ РАСТЕНИЙ

2025, 8(3)

ОСНОВАН В 2018 ГОДУ  
ПЕРИОДИЧНОСТЬ 4 РАЗА В ГОД

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

e-mail: pbi@vir.nw.ru

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

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

DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3  
УДК: 573.6:631.527

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

## На обложке:

**Фото:** Микропомножение образцов рябины для дальнейшей криоконсервации и оценка регенерационной способности изолированных апексов микропобегов в контрольных вариантах опытов  
а – микрорастения рябины из коллекции *in vitro*; б – этап микропомножения; регенерационная способность апексов в контрольных опытах ‘-LN’ и ‘+LN’ у сортов ‘Сорбинка’ (с) и ‘Бурка’ (д).

**Материалы к статье:** Дунаева С.Е., Лисицына О.В., Волкова Н.Н., Гавриленко Т.А.  
Криоконсервация селекционных сортов рябины из *in vitro* коллекции ВИР.  
*Биотехнология и селекция растений.* DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-06

SCIENTIFIC PEER REVIEWED JOURNAL

# PLANT BIOTECHNOLOGY AND BREEDING

2025, 8(3)

FOUNDED IN 2018  
PUBLISHED 4 TIMES ANNUALLY

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

e-mail: pbi@vir.nw.ru

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

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

## Cover photo:

**Photo:** Micropropagation of rowan accessions for further cryopreservation; regenerative capacity of isolated apices in control tests

а – rowan microplants from the *in vitro* collection; б – micropropagation stage; apex regenerative capacity in cvs. ‘Sorbinka’ (с) and ‘Burka’ (д) in control ‘-LN’ and ‘+LN’ tests.

**Materials for the article:** Dunaeva S.E., Lisitsyna O.V., Volkova N.N., Gavrilenko T.A. Dunaeva S.E., Lisitsyna O.V., Volkova N.N., Gavrilenko T.A. Cryopreservation of bred cultivars of rowan from the VIR *in vitro* collection. *Plant Biotechnology and Breeding.* DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-06

## Биотехнология и селекция растений

2025 Том 8 № 3

DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3  
<https://biosel.elpub.ru>

Научный рецензируемый журнал  
Издается с 2018 г.

Издание зарегистрировано Федеральной службой по надзору в сфере связи,  
информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)

Свидетельство о регистрации СМИ: ПИ № ФС77-74475 от 30 ноября 2018 г.

Учредитель: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

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

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

### Главный редактор:

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

### Заместители главного редактора:

**Т. А. Гавриленко** – д.б.н. (Россия)  
**И. Н. Анисимова** – д.б.н. (Россия)  
**Л. Ю. Новикова** – д.с.-х.н. (Россия)

### Ответственный секретарь:

**Н. А. Оськина** (Россия)

### Редакционный совет:

О. С. Афанасенко – д.б.н., академик РАН (Россия)  
Г. А. Баталова – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)  
Р. К. Берсимбаев – д.б.н., академик НАН РК (Казахстан)  
Л. А. Беспалова – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)  
С. И. Гриб – д.с.-х.н., академик НАНБ (Беларусь)  
Е. А. Егоров – д.э.н., академик РАН (Россия)  
В. Г. Еремин – д.с.-х.н., профессор РАН (Россия)  
Г. В. Еремин – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)  
Г. И. Карлов – д.б.н., профессор РАН, академик РАН (Россия)  
А. В. Кильчевский – д.б.н., академик НАНБ (Беларусь)  
Н. А. Колчанов – д.б.н., академик РАН (Россия)  
В. Н. Корзун – д.б.н. (Германия)  
А. В. Кочетов – д.б.н., профессор РАН, академик РАН (Россия)  
Н. В. Кухарчик – д.с.-х.н. (Беларусь)  
В. М. Лукомец – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)  
Л. А. Лутова – д.б.н. (Россия)  
С. Мишева – д-р (Болгария)  
А. И. Моргунов – к.с.-х.н. (Казахстан)  
В. Ройчев – д.с.-х.н. (Болгария)  
А. А. Романенко – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)  
А. В. Рындин – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)  
Е. Н. Седов – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)  
И. А. Тихонович – д.б.н., академик РАН (Россия)  
П. Н. Харченко – д.б.н., академик РАН (Россия)  
В. К. Шумный – д.б.н., академик РАН (Россия)

### Редакционная коллегия:

Е. Е. Андронов – д.б.н. (Россия)  
Д. А. Афонников – д.б.н. (Россия)  
А. Х. Баймиев – д.б.н. (Россия)  
И. А. Белан – к.с.-х.н. (Россия)  
А. Г. Беседин – к.с.-х.н. (Россия)  
М. А. Вишнякова – д.б.н. (Россия)  
В. А. Гаврилова – д.б.н. (Россия)  
С. В. Гаркуша – д.с.-х.н., член-корреспондент РАН (Россия)  
Т. А. Гасанова – к.с.-х.н. (Россия)  
С. В. Герасимова – к.б.н. (Россия)  
М. С. Гинс – д.б.н., профессор РАН, член-корреспондент РАН (Россия)  
С. В. Гончаров – д.б.н. (Россия)  
Р. О. Давоян – д.б.н. (Россия)  
Я. Н. Демуринов – д.б.н. (Россия)  
М. Г. Дивашук – к.б.н. (Россия)  
Е. В. Думачева – д.б.н. (Россия)  
С. Н. Еланский – д.б.н. (Россия)  
О. В. Еремина – д.с.-х.н. (Россия)  
А. П. Ермишин – д.б.н. (Беларусь)  
М. В. Ефимова – к.б.н. (Россия)  
Р. Ш. Заремук – д.с.-х.н. (Россия)  
С. В. Зеленцов – д.с.-х.н., член-корреспондент РАН (Россия)  
Е. Т. Ильницкая – к.б.н. (Россия)  
Р. Н. Календарь – к.б.н. (Казахстан)  
Н. Н. Карпун – д.б.н. (Россия)  
В. С. Ковалев – д.с.-х.н. (Россия)  
Н. Н. Коваленко – д.б.н. (Россия)  
Е. З. Кочиева – д.б.н. (Россия)  
Б. Р. Кулуев – д.б.н. (Россия)  
К. У. Куркиев – д.б.н. (Россия)  
С. В. Кушнаренко – к.б.н. (Казахстан)  
И. Н. Леонова – д.б.н. (Россия)  
И. Е. Лихенко – д.с.-х.н. (Россия)  
В. В. Лиховской – д.с.-х.н. (Россия)  
П. Н. Мальчиков – д.с.-х.н. (Россия)  
Т. В. Матвеева – д.б.н. (Россия)  
Н. В. Мироненко – д.б.н. (Россия)  
И. В. Митрофанова – д.б.н., член-корреспондент РАН (Россия)  
Е. И. Михайлова – д.б.н. (Россия)  
С. В. Осипова – д.б.н. (Россия)  
В. Н. Подорожный – к.с.-х.н. (Россия)  
Т. Г. Причко – д.с.-х.н. (Россия)  
Т. А. Рожмина – д.б.н. (Россия)  
А. В. Смыков – д.с.-х.н. (Россия)  
А. А. Соловьев – д.б.н., профессор РАН (Россия)  
И. И. Супрун – к.б.н. (Россия)  
К. Г. Ткаченко – д.б.н. (Россия)  
Е. К. Турусбеков – к.б.н. (Казахстан)  
Е. В. Ульяновская – д.с.-х.н. (Россия)  
О. Ю. Урбанович – д.б.н. (Беларусь)  
Ю. В. Фотев – к.с.-х.н. (Россия)  
Э. Б. Хатефов – д.б.н. (Россия)  
Я. А. Цепилов – к.б.н. (Россия)  
О. Ю. Шоева – к.б.н. (Россия)  
Л. А. Эльконин – д.б.н. (Россия)  
Г. В. Якуба – к.б.н. (Россия)

## Plant Biotechnology and Breeding

2025 Volume 8 No 3  
DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3  
<https://biosel.elpub.ru>

Scientific Peer Reviewed Journal

Founded in 2018

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

### Editor-in-Chief:

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

### Deputy Editors-in-Chief:

**T. A. Gavrilenko** – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
**I. N. Anisimova** – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
**L. Yu. Novikova** – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)

### Executive Secretary:

**N. A. Oskina** (Russia)

### Editorial council:

O. S. Afanasenko – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the RAS (Russia)  
G. A. Batalova – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)  
R. K. Bersimbaev – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the NAS RK (Kazakhstan)  
L. A. Bespalova – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)  
E. A. Egorov – Dr. Sci. in Econ., Full Member of the RAS (Russia)  
G. V. Eremin – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)  
V. G. Eremin – Dr. Sci. in Agricul., Professor of the RAS (Russia)  
S. I. Grib – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the NAS of Belarus (Belarus)  
G. I. Karlov – Dr. Sci. in Biol., Professor of the RAS, Full Member of the RAS (Russia)  
P. N. Kharchenko – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the RAS (Russia)  
A. V. Kilchevsky – Dr. Sci. in Biol., Corr. Member of the NAS of Belarus (Belarus)  
A. V. Kochetov – Dr. Sci. in Biol., Professor of the RAS, Full Member of the RAS (Russia)  
N. A. Kolchanov – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the RAS (Russia)  
V. N. Korzun – Dr. Sci. in Biol. (Germany)  
N. V. Kukharchik – Dr. Sci. in Agricul. (Belarus)  
V. M. Lukomets – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)  
L. A. Lutova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
S. Misheva – Dr. (Bulgaria)  
A. I. Morgunov – Cand. Sci. in Agricul. (Kazakhstan)  
A. A. Romanenko – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)  
V. Roychev – Dr. Sci. in Agricul. (Bulgaria)  
A. V. Ryndin – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)  
E. N. Sedov – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)  
V. K. Shumny – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the RAS (Russia)  
I. A. Tikhonovich – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the RAS (Russia)

### Editorial board:

D. A. Afonnikov – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
E. E. Andronov – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
A. H. Bajmiev – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
I. A. Belan – Cand. Sci. in Agricul. (Russia)  
A. G. Besedin – Cand. Sci. in Agricul. (Russia)  
R. O. Davoyan – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
Ya. N. Demurin – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
M. G. Divashuk – Cand. Sci. in Biol. (Russia)  
E. V. Dumacheva – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
M. V. Efimova – Cand. Sci. in Biol. (Russia)  
S. N. Elansky – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
L. A. Elkonin – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
O. V. Eremina – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)  
A. P. Ermishin – Dr. Sci. in Biol. (Belarus)  
Yu. V. Fotev – Cand. Sci. in Agricul. (Russia)  
S. V. Garkusha – Dr. Sci. in Agricul., Corr. Member of the RAS (Russia)  
T. A. Gasanova – Cand. Sci. in Agricul. (Russia)  
V. A. Gavrilova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
S. V. Gerasimova – Cand. Sci. in Biol. (Russia)  
M. S. Gins – Dr. Sci. in Biol., Professor of the RAS, Corr. Member of the RAS (Russia)  
S. V. Goncharov – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
E. T. Il'nitskaya – Cand. Sci. in Biol. (Russia)  
R. N. Kalendar – Cand. Sci. in Biol. (Kazakhstan)  
N. N. Karpun – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
E. B. Khatefov – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
E. Z. Kochieva – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
N. N. Kovalenko – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
V. S. Kovalev – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)  
B. R. Kuluev – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
K. U. Kurkiev – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
S. V. Kushnarenko – Cand. Sci. in Biol. (Kazakhstan)  
I. N. Leonova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
I. E. Lihenko – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)  
V. V. Likhovskoi – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)  
P. N. Malchikov – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)  
T. V. Matveeva – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
N. V. Mironenko – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
I. V. Mitrofanova – Dr. Sci. in Biol., Corr. Member of the RAS (Russia)  
E. I. Mikhailova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
S. V. Osipova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
V. N. Podorozhnyi – Cand. Sci. in Agricul. (Russia)  
T. G. Prichko – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)  
T. A. Rozhmina – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
O. Yu. Shoeva – Cand. Sci. in Biol. (Russia)  
A. V. Smykov – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)  
A. A. Soloviev – Dr. Sci. in Biol., Professor of the RAS (Russia)  
I. I. Suprun – Cand. Sci. in Biol. (Russia)  
K. G. Tkachenko – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
Ya. A. Tsepilov – Cand. Sci. in Biol. (Russia)  
E. K. Turuspekov – Cand. Sci. in Biol.  
E. V. Ulyanovskaya – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)  
O. Yu. Urbanovich – Dr. Sci. in Biol. (Belarus)  
M. A. Vishnyakova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)  
G. V. Yakuba – Cand. Sci. in Biol. (Russia)  
R. Sh. Zaremuk – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)  
S. V. Zelentsov – Dr. Sci. in Agricul., Corr. Member of the RAS (Russia)



## СОДЕРЖАНИЕ

## CONTENTS

ОТ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА	5	FROM THE EDITOR IN CHIEF	5
<i>Е. К. Хлесткина</i> ВСТУПИТЕЛЬНАЯ СТАТЬЯ		<i>E. K. Khlestkina</i> INTRODUCTORY ARTICLE	
МЕТОДЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В СЕЛЕКЦИИ И СЕМЕНОВОДСТВЕ РАСТЕНИЙ	7	BIOTECHNOLOGY TECHNIQUES IN PLANT BREEDING AND SEED PRODUCTION	7
<i>Иноземцева А.В., Евлаш А.Я., Елацкова А.Г., Хлесткина Е.К., Швачко Н.А.</i> <i>Научная статья</i> Оптимизация протоколов <i>in vitro</i> для сортов арбуза <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai селекции ВИР		<i>Inozemtseva A.V., Evlash A.Ya., Elatskova A.G., Khlestkina E.K., Shvachko N.A.</i> <i>Original article</i> Optimization of <i>in vitro</i> protocols for VIR cultivars of watermelon <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	
ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ	19	STUDY OF PLANT GENETIC RESOURCES USING MOLECULAR GENETICS METHODS	19
<i>Гончаренко А.О., Багмет Л.В., Петрова М.Н., Антонова О.Ю.</i> <i>Научная статья</i> Определение аллельного состава гена <i>S-RNase</i> у образцов коллекции груши, поддерживаемой на Майкопской опытной станции ВИР		<i>Goncharenko A.O., Bagmet L.V., Petrova M.N., Antonova O.Yu.</i> <i>Original article</i> Determination of the <i>S-RNase</i> gene allelic composition in pear accessions of the collection maintained at the Maikop Experiment Station of VIR	
<i>Макаов А.К., Радченко О.Е., Криворучко К.Р., Антонова О.Ю.</i> <i>Научная статья</i> CAPS-маркеры для анализа полиморфизма пластидной ДНК у представителей подрода <i>Prunophora</i> (Neck. ex Spach) Focke рода <i>Prunus</i> L.	32	<i>Makaov A.K., Radchenko O.E., Krivoruchko K.R., Antonova O.Yu.</i> <i>Original article</i> CAPS markers for the analysis of plastid DNA polymorphism in representatives of the subgenus <i>Prunophora</i> (Neck. ex Spach) Focke of the genus <i>Prunus</i> L.	32
<i>Оська Н.А., Антонова О.Ю., Гавриленко Т.А.</i> <i>Научная статья</i> Новый маркер для определения А-типа хлоропластной ДНК у длительно хранящихся гербарных образцов культурных видов картофеля	43	<i>Oskina N.A., Antonova O.Yu., Gavrilenko T.A.</i> <i>Original article</i> A new marker for the detection of A-type chloroplast DNA in long-term stored herbarium specimens of cultivated potato species	43
СОХРАНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ	55	CONSERVATION OF PLANT GENETIC RESOURCES USING BIOTECHNOLOGICAL APPROACHES	55
<i>Дунаева С.Е., Лисицына О.В., Волкова Н.Н., Гавриленко Т.А.</i> <i>Научная статья</i> Криоконсервация селекционных сортов рябины из коллекции <i>in vitro</i> ВИР		<i>Dunaeva S.E., Lisitsyna O.V., Volkova N.N., Gavrilenko T.A.</i> <i>Original article</i> Cryopreservation of bred cultivars of rowan from the VIR <i>in vitro</i> collection	

*Бабак О.Г., Хлесткина Е.К.,  
Кочетов А.В.*

*Краткое сообщение*

К юбилею академика НАН Беларуси  
Александра Владимировича Кильчевского

*Babak O.G., Khlestkina E.K.,  
Kochetov A.V.*

*Brief communication*

On the Anniversary of the Academician of  
the National Academy of Sciences of Belarus  
Alexander Vladimirovich Kilchevsky



**Уважаемые читатели!**

В текущем выпуске вашему вниманию представлена серия публикаций о новых методических разработках в области частной молекулярной генетики и биотехнологии растений с широким потенциалом применения – от изучения эволюции до селекции и внедрения генетических технологий в растениеводство. Так, Н.А. Оськина с соавторами, выполняя исследование в области так называемой «гербарной геномики», разработали новые маркеры для детекции андийского А-типа пластидной ДНК у вековых гербарных образцов культурных видов картофеля. Результативность новых маркеров достоверно выше ранее предложенных аналогичных способов анализа. Расширенный набор маркеров для детекции различных типов хлДНК может быть использован для изучения истории доместикации картофеля, установления филогенетических связей и для идентификации селекционного и коллекционного материала.

А.К. Макаов с соавторами разработали набор CAPS-маркеров для быстрого анализа полиморфизма сегментов ДНК в пластидных

локусах у представителей секции *Prunus*, который предлагается использовать для углубленного изучения филогенетических взаимоотношений внутри рода, уточнения происхождения отдельных видов, возникших в результате отдаленной гибридизации.

Оптимизированные протоколы, обеспечивающие высокую эффективность введения в культуру *in vitro* различных сортов арбуза, представлены А.В. Иноземцевой с соавторами. Достигнутый уровень каллусообразования и регенерации позволяет преодолеть трудности, связанные с генотип-специфичной реакцией эксплантов на состав питательных сред, и является основой для последующих исследований, в том числе в сфере применения технологий редактирования генома арбуза.

Отдельное внимание в текущем выпуске уделено проблеме самонесовместимости плодовых культур. А.О. Гончаренко с соавторами исследовали около 200 образцов коллекции груши, поддерживаемой на Майкопской опытной станции – филиале Федерального исследовательского центра Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР). В первую очередь были изучены местные стародавние сорта кавказского и крымского происхождения при помощи различных систем маркеров аллелей S-локуса, контролирующего самонесовместимость. В результате установлено аллельное разнообразие и выявлено своеобразие сортов народной селекции Кавказа и Крыма. Авторы отмечают, что местные сорта с оригинальным S-профилем могут являться ценным материалом для селекции.

В исследовании С.Е. Дунаевой с соавторами была показана высокая эффективность метода дроplet-витрификации, модифицированного в ВИР, для криоконсервации образцов рябины. В криобанк ВИР заложены шесть сортов рябины с посткриогенной регенераци-

ей 53-97%. Планируется дальнейшее увеличение криоколлекции образцов рябины.

Дорогие друзья, редакция журнала поздравляет с юбилеем председателя Белорусского общества генетиков и селекционеров академик Нацио­нальной академии наук Беларуси

Александра Владимировича Кильчевского! Представляем читателям публикацию, посвященную юбиляру. Желаем Александру Владимировичу крепчайшего здоровья, успехов и долгих лет в научной и организационной работе!

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



Научная статья

УДК 581.143.6:57.083

DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-05



## Оптимизация протоколов *in vitro* для сортов арбуза *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai селекции ВИР

А. В. Иноземцева<sup>1</sup>, А. Я. Евлаш<sup>3</sup>, А. Г. Елацкова<sup>2</sup>, Е. К. Хлесткина<sup>1,3</sup>, Н. А. Швачко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Кубанская опытная станция – филиал ВИР, Краснодарский край, Россия

<sup>3</sup>Научно-технологический университет «Сириус», Центр генетики и наук о жизни, Краснодарский край, Россия

**Автор, ответственный за переписку:** Швачко Наталия Альбертовна n.shvachko@vir.nw.ru

**Актуальность.** *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai – важная бахчевая культура. Эффективность применения методов культивирования *in vitro* ограничена генотип-специфичной реакцией эксплантов на состав питательных сред, что требует оптимизации протоколов для коммерчески значимых сортов. **Материалы и методы.** Исследовано девять сортов арбуза селекции ВИР. Использовали модификации питательной среды МС для введения в культуру *in vitro*, различные комбинации фитогормонов БАП, НУК, ИУК, 2,4-Д и ТДЗ для укоренения, каллусообразования и регенерации. Статистический анализ выполнен с использованием точного теста Фишера ( $p < 0,05$ ). **Результаты и обсуждение.** Безгормональные питательные среды обеспечили до 88% введения в культуру *in vitro* жизнеспособных эксплантов. На средах с НУК укоренение достигало 70-88%. Оптимальная индукция каллуса (до 100%) наблюдалась на среде с 0,5 мг/л БАП и 0,1 мг/л 2,4-Д, регенерация – на среде с 1 мг/л БАП и 0,1 мг/л НУК. **Заключение.** Оптимизированы этапы культивирования эксплантов *in vitro* для различных сортов арбуза, что обеспечивает высокую эффективность введения в культуру, каллусообразования и регенерации, создавая основу для последующих биотехнологических исследований.

**Ключевые слова:** Cucurbitaceae, каллусогенез, органогенез, арбуз, коллекция ВИР

**Благодарности:** Работа выполнена в рамках темы НИР № 0481-2022-0007 «Выявление новых генетических маркеров селекционно значимых свойств и новых аллельных вариантов хозяйственно ценных генов в генофонде культурных растений и их диких родичей при помощи геномных и постгеномных технологий».

**Для цитирования:** Иноземцева А.В., Евлаш А.Я., Елацкова А.Г., Хлесткина Е.К., Швачко Н.А. Оптимизация протоколов *in vitro* для сортов арбуза *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai селекции ВИР. *Биотехнология и селекция растений*. 2025;8(3):7-18. DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-05

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

© Иноземцева А.В., Евлаш А.Я., Елацкова А.Г., Хлесткина Е.К., Швачко Н.А., 2025

## Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-o5

## Optimization of *in vitro* protocols for VIR cultivars of watermelon *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai

Anastasiia V. Inozemtseva<sup>1</sup>, Anastasia Ya. Evlash<sup>3</sup>, Anna G. Elatskova<sup>2</sup>, Elena K. Khlestkina<sup>1,3</sup>, Nataliya A. Shvachko<sup>1</sup><sup>1</sup>N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia<sup>2</sup>N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), Kuban Experiment Station – Branch of VIR, Krasnodar Region, Russia<sup>3</sup>Sirius University of Science and Technology, Research Center for Genetics and Life Sciences, Krasnodar Region, Russia**Corresponding author:** Nataliya A. Shvachko, n.shvachko@vir.nw.ru

**Background.** *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai is an important cucurbit crop. The efficiency of *in vitro* methods is limited by the genotype-specific response of explants to culture media composition, which necessitates protocol optimization for commercially important cultivars. **Materials and methods.** Nine watermelon cultivars bred at VIR were studied. The research used modified MS culture media for introducing explants into *in vitro* culture, as well as various combinations of phytohormones (BAP, NUK, IUK, 2,4-D, and TDZ) for rooting, callus formation, and regeneration. Statistical analysis was performed using Fisher's exact test ( $p < 0.05$ ). **Results.** Hormone-free culture media ensured the introduction of up to 88% of viable explants into *in vitro* culture. On the NAA-supplemented media, rooting reached 70-88%. Optimal callus induction (up to 100%) was observed on the medium with 0.5 mg/L BAP and 0.1 mg/L 2,4-D, while regeneration was most effective on the medium with 1 mg/L BAP and 0.1 mg/L NAA. **Conclusion.** The stages of *in vitro* explant cultivation for various watermelon cultivars have been optimized, ensuring highly efficient introduction into culture, callus formation, and regeneration, thus creating a basis for subsequent biotechnological research.

**Keywords:** Cucurbitaceae, callusogenesis, organogenesis, watermelon, VIR collection

**Acknowledgements:** the work was carried out within the framework of the Research Project No. 15H 0481-2022-0007 "Identifying new genetic markers of significant traits for breeding and new allelic versions of agronomically important genes in the genetic diversity of cultivated plants and their wild relatives using genomic and postgenomic technologies".

**For citation:** Inozemtseva A.V., Evlash A.Ya., Elatskova A.G., Khlestkina E.K., Shvachko N.A. Optimization of *in vitro* protocols for VIR cultivars of watermelon *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2025;8(3):7-18. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-o5

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

© Inozemtseva A.V., Evlash A.Ya., Elatskova A.G., Khlestkina E.K., Shvachko N.A., 2025

## Введение

Арбуз *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai – одна из наиболее значимых бахчевых культур, ценимых за высокую пищевую и диетическую ценность. В последние годы культура тканей и клеточная биотехнология рассматриваются как перспективные инструменты для ускоренной селекции и генетической модификации арбуза. Данная культура является сложным объектом для регенерации *in vitro* из-за высокой генотипической вариабельности, низкой частоты каллусообразования и побегообразования (Compton, Gray, 1993a; Wang et al., 2013). Однако для многих представителей семейства Cucurbitaceae уже описаны эффективные схемы стерилизации, каллусогенеза и органогенеза (Venkatachalam et al., 2018; Hamdeni et al., 2022).

На начальной стадии введения растений в культуру *in vitro* большинство исследователей используют среду Мурасиге-Скуга (МС; англ. Murashige and Skoog medium, MS), обеспечивающую условия для стабильного прорастания и введения эксплантов в асептическую культуру (Murashige, Skoog, 1962; Krug et al., 2005). Для индукции каллуса наибольшее распространение получил синтетический ауксин 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д) в концентрации 0,5-2,5 мг/л, особенно при использовании семядольных эксплантов (Sultana, Bari, 2003; Khatun et al., 2010). Ряд работ демонстрирует возможность получения эмбрионного каллуса и последующей регенерации побегов (Dong, Jia, 1991; Compton, Gray, 1993b, однако эффективность этих подходов значительно варьирует в зависимости от генотипа исследуемых растений (Compton, Gray, 1993a; Liu et al., 2024).

Для индуцирования побегообразования применяют высокие концентрации цитокининов, прежде всего 6-бензиламинопурина (БАП) в диапазоне 1-2 мг/л, часто в комбинации с низкими дозами ауксинов, таких как 1-нафтилуксусная, иначе  $\alpha$ -нафтилуксусная, кислота (НУК) или индолилуксусная кислота (ИУК) (Compton, Gray, 1993b; Li et al., 2011). Укоренение регенерантов обычно проводят на базовой или половинной МС, в которую добавляют НУК, индолилмасляную кислоту (ИМК) или синтетическое производное фенилмочевины, стимулирующее цитокинез у растений – тидиазурон (N-фенил-N'-(1,2,3-тиадиазол-5-ил)мочевина, (ТДЗ) в концентрации 0,1-0,5 мг/л (Yalcin-Mendia et al., 2003; Badr-Elden et al., 2012).

Несмотря на накопленные данные, остаются неясными вопросы выбора оптимальных сред для разных сортов арбуза, эффективности длительного поддержания каллусных линий и влияния типа экспланта на регенерационный потенциал. Особенно недостаточно сведений о сравнении нескольких сортов в едином эксперименте на широком наборе сред.

Выбор девяти сортов арбуза *C. lanatus* был обусловлен

как их коммерческой востребованностью, так и широким фенотипическим разнообразием. Среди отобранных сортов есть раннеспелые ('Подарок Солнца', 'Сюрприз'), среднеранние ('Ольгинский', 'Красавчик'), среднеспелые ('Адам', 'Благодатный', 'Чарльстон грэй' - Приложение/ Supplement<sup>1</sup>), среднепоздний сорт 'Чёрный принц' и поздний – 'Святослав'. Эти сорта различаются по форме плода, окраске и рисунку коры, цвету мякоти, длине плетей и устойчивости к биотическим/ абиотическим стрессам, что подтверждено данными изучения коллекции ВИР (Tekhanovich et al., 2012; Tekhanovich et al., 2019).

Настоящая работа направлена на оптимизацию условий введения в культуру *in vitro*, каллусообразования, укоренения и регенерации различных сортов арбуза, относящихся к коллекции ВИР. В отличие от большинства опубликованных работ, сосредоточенных на единичных генотипах, в данном исследовании проведено систематическое сравнение нескольких часто используемых искусственных сред для культивирования *in vitro* ряда сортов с различным генетическим фоном. Это позволило выявить как общие закономерности, так и генотип-специфические особенности ответа на регуляторы роста. Такой подход даёт практическую основу для дальнейших работ по трансформации и редактированию генома арбуза.

## Материалы и методы

В качестве объектов исследования в данной работе были использованы девять сортов арбуза из коллекции ВИР. Все сорта культивируются в условиях Кубанской опытной станции и имеют высокие оценки качества, они являются засухоустойчивыми, устойчивыми к фузариозному увяданию и антракнозу. Среди выбранных сортов представлены образцы, отличающиеся по габитусу растения, форме плода, цвету и рисунку коры, окраске мякоти и срокам созревания (табл. 1). Для этапа введения в культуру *in vitro* использовали зрелые семена, а для укоренения – семядоли асептически культивированных проростков. Для каждого варианта среды эксперимент выполняли в трёх повторностях. В каждой повторности использовали по 8-10 эксплантов (в зависимости от сорта). В таблицах приведены суммарные значения, полученные в трёх независимых опытах. Все показатели: введение в культуру, каллусообразование, укоренение и регенерацию – оценивали через 4-6 недель после закладки опыта.

Семена предварительно освобождали от перикарпа, после чего обрабатывали по многоступенчатому протоколу, в основу которого были положены процедуры, использованные другими исследователями (Murashige, Skoog, 1962; Compton, Gray, 1993a; Krug et al., 2005), но с определёнными модификациями:

<sup>1</sup> Приложение доступно в онлайн версии статьи/ The Supplement is available in the online version of the paper: DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-05

1. Предварительно семена замачивали в теплой дистиллированной воде 36°C, 40 мин;
2. Предварительная обработка Tween-20 1 капля (~20 µl на 100 мл воды) в течение 5 мин;
3. Моющее средство (Fairy) в течение 20 мин на шейкере при 180 об/мин
4. Промывка водопроводной водой 5 раз
5. 10% раствор NaOCl на шейкере при 180 об/мин в течение 15 мин;
6. Промывка стерильной дистиллированной водой (15×); Очищенные семена помещали по одному в пробирки на соответствующие среды (табл. 2).

**Таблица 1. Сорты, использованные в данной работе**

**Table 1. Cultivars used in this study**

Номер каталога ВПР/ VIR Cat. No.	Название сорта/ Cultivar name	Происхождение/ Origin	Срок созревания/ Ripening time	Тип растения/ Plant type	Цвет мякоти/ Flesh color	Форма плода/ Fruit shape	Цвет и рисунок коры/ Rind color and pattern
к-5402	‘Подарок Солнца’	Россия	Ранний	КП	Густо-розовая	Шаровидная	Ярко-Желтый
к-5429	‘Сюрприз’	Россия	Ранний	КП	Желтая	Шаровидная	Светло-зеленый фон с черно-зелеными узкими полосами
к-5090	‘Ольгинский’	Россия	Среднеранний	ПЛ	Густо-розовая и малиновая	Тупоэллиптическая	Темно-зеленый
к-5667	‘Красавчик’	Россия	Среднеранний	ПЛ	Густо-розовая и малиновая	Шаровидная	Светло-зеленый фон с темно-зелеными широкими полосами
к-4128/ 8954475*	‘Charleston Gray’ 133 / ‘Чарльстон грэй’*	United States/ Россия*	Среднеспелый*	ПЛ/ СПЛ*	Розово-красная*	Цилиндрическая*	Фон белесый, без рисунка, пятнистость очень слабая*
к-5426	‘Благодатный’	Россия	Среднеспелый	ПЛ	Густо-розовая	Шаровидная	Светло-зеленый фон с узкими черно-зелеными полосами
к-5591	‘Адам’	Россия	Среднеспелый	ПЛ	Густо-розовая	Шаровидная	Светло-зеленый фон с черно-зелеными средней ширины полосами
к-5425	‘Чёрный принц’	Россия	Среднепоздний	ПЛ	Малиновая	Цилиндрическая	Темно-зеленый
к-5428	‘Святослав’	Россия	Поздний	К	Малиновая	Шаровидная	Светло-зеленый фон с широкими, размытыми темно-зелеными полосами

**Примечания:** ПЛ – плетистое (длинноплетистое) растение; СПЛ – среднесплетистое; КП – короткоплетистое; К – кустовое. Сроки созревания (группы спелости): ранние – 65-70 дней; среднеранние – 71-80 дней; среднеспелые – 81-85 дней; среднепоздние – 86-95 дней; поздние – более 95 дней; \* - см. Приложение

**Notes:** PЛ – vining (long-vine) plant; SPЛ – medium-vine; КП – short-vine; К – bushy. Ripening period (maturity groups): early – 65-70 days; mid-early – 71-80 days; mid-ripening – 81-85 days; mid-late – 86-95 days; late – over 95 days; \* - see the Supplement

Условия проращивания: 25 ± 2°C, фотопериод 16 ч свет / 8 ч темнота, длительность культивирования 5-47 суток в зависимости от сорта. После появления семядолей 90% проростков переводили на укоренение, оставшиеся 10 % – на индукцию каллуса.

Для анализа частоты успешного введения эксплантов в культуру *in vitro*, укоренения побегов, индукции каллусообразования и регенерации использовали точный тест Фишера, который корректно применяется для категориальных данных с малым числом наблюдений (≤ 24 на вариант). Для каждой питательной среды подсчитывали количество успешных и неуспешных случаев для каждого сорта, после чего выполняли попарные сравнения между средами. Данный тест позволяет достоверно оценивать различия между двумя или более категориями при небольших выборках и бинарных исходах (успех/

неуспех), где применение  $\chi^2$ -критерия может быть некорректным. Критический уровень статистической значимости  $p$  принимали равным 0,05 ( $p=0,05$ ). Статистическая обработка данных выполнена в среде Python 3.11 (библиотека SciPy 1.11).

## Результаты

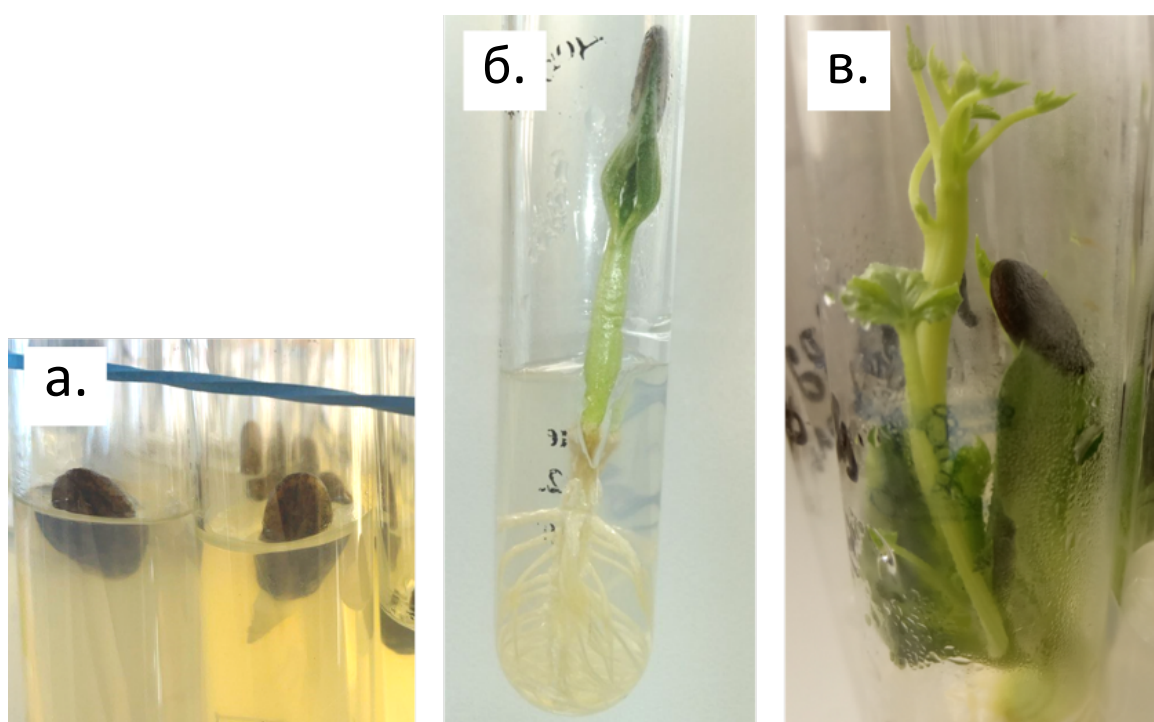
**Введение в культуру *in vitro* и поддержание в культуре образцов арбуза.** Введение арбуза в культуру *in vitro* проходило через ряд стандартных стадий, включая проращивание семян в стерильных условиях, получение проростков с семядолями и корешками, стадию роста побегов. Визуализация этих этапов представлена на рисунке 1 (1a-1b).



**Таблица 2. Основные питательные среды, применённые на каждом этапе протокола культивирования *in vitro* для арбуза *Citrullus lanatus***

**Table 2. Main culture media used at each stage of the *in vitro* cultivation protocol for watermelon *C. lanatus***

Этап/ Stage	Среды/ Culture media	Литература/ Reference
Прорастание	МС	Murashige, Skoog, 1962
	½ МС	
	МС + 2 мг/л 6-БАП	Compton, Gray, 1993a
	МС + 0,5 мг/л 6-БАП + 0,1 мг/л ИУК	Wang et al., 2013
Индукция каллуса	МС + 0,5 мг/л 6-БАП + 0,1 мг/л 2,4-Д	
	МС + 2 мг/л 6-БАП + 0,1 мг/л 2,4-Д	
	МС + 0,5 мг/л 6-БАП + 0,1 мг/л ТДЗ	
	МС + 1,0 мг/л 2,4-Д	
Регенерация	МС + 0,5 мг/л 6-БАП + 0,1 мг/л НУК	Compton, Gray, 1993a
	МС + 2 мг/л 6-БАП + 0,1 мг/л НУК	Liu et al., 2024
	МС + 1 мг/л 6-БАП + 0,2 мг/л НУК	Wang et al., 2013
	МС + 2 мг/л 6-БАП + 0,1 мг/л 2,4-Д	
	МС + 1 мг/л 6-БАП + 0,5 мг/л НУК	Sultana, Bari, 2003
	МС + 2 мг/л 6-БАП + 1 мг/л НУК	Li et al., 2011
Укоренение	МС + 0,1 мг/л НУК	Krug et al., 2005
	МС + 0,2 мг/л НУК	Li et al., 2011
	МС + 0,5 мг/л 6-БАП + 0,5 мг/л НУК	Sultana, Bari, 2003



**Рис. 1. Процесс введения *Citrullus lanatus* в культуру *in vitro***  
а. – семена на начальной стадии культивирования; б – развитие семядолей, формирование корневой системы; в – активный рост и удлинение стебля

**Fig. 1. The process of introducing *C. lanatus* into *in vitro* culture**  
а. – seeds at the initial cultivation stage; б. – development of cotyledons and formation of the root system; в. – active stem growth and elongation

Эффективность введения эксплантов арбуза в культуру *in vitro* значительно варьировала в зависимости от состава питательной среды, качества семян и генотипа. Среда ½ МС (75%) и МС (69,9%) оказались значительно эффективнее, чем МС + 2 мг/л БАП (30,1%) и МС + 0,5 мг/л БАП + 0,1 мг/л ИУК (32,9%) ( $p < 0,001$ ). Среда ½ МС обеспечила наилучшие результаты для большинства сортов, включая ‘Подарок Солнца’, ‘Сюр-

приз’ и ‘Красавчик’ (88%). Напротив, добавление 2 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП) резко снижало прорастание у всех сортов, за исключением сорта ‘Святослав’, у которого этот показатель достигал 58%. Среда с 0,5 мг/л БАП и 0,1 мг/л ИУК вызывала ещё более выраженное подавление прорастания у большинства генотипов, результаты представлены в таблице 3.

**Таблица 3. Оценка эффективности введения эксплантов арбуза в культуру *in vitro* на различных средах**

**Table 3. Evaluated effectiveness of introducing watermelon explants into *in vitro* culture on different media**

Название сорта/ Cultivar name	Состав питательных сред/ Culture media composition			
	½ МС	МС	МС + 2 мг/л БАП	МС + 0,5 мг/л БАП + 0,1 мг/л ИУК
‘Подарок Солнца’	21 (88%)	21 (88%)	11 (46%)	4 (17%)
‘Чёрный принц’	17 (71%)	16 (67%)	4 (17%)	18 (75%)
‘Ольгинский’	20 (83%)	18 (75%)	2 (8%)	3 (12%)
‘Сюрприз’	21 (88%)	21 (88%)	17 (71%)	16 (67%)
‘Чарльстон грэй’	20 (83%)	17 (71%)	2 (8%)	6 (25%)
‘Святослав’	11 (46%)	11 (46%)	14 (58%)	0 (0%)
‘Благодатный’	20 (83%)	17 (71%)	4 (17%)	4 (17%)
‘Адам’	11 (46%)	9 (38%)	0 (0%)	9 (38%)
‘Красавчик’	21 (88%)	21 (88%)	11 (46%)	11 (46%)

**Примечания:** указано число успешно проросших семян из 24 помещённых на питательную среду; в скобках – процент, рассчитан как (успешно/ 24) × 100

**Notes:** The number denotes the seeds that successfully germinated out of 24 placed on the culture medium; in parentheses is the percentage calculated as (successful/24) × 100

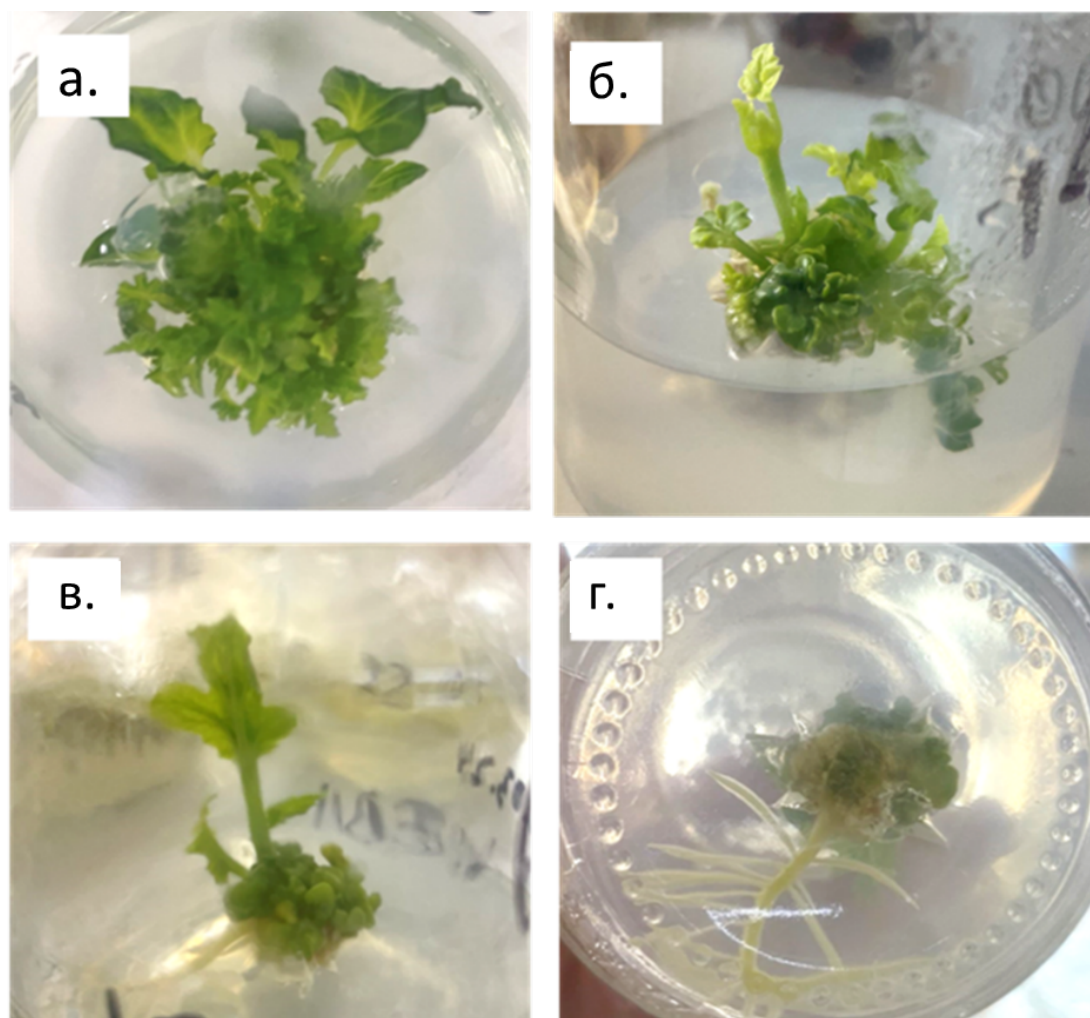
Когда проростки достигали 2-4 см в высоту, их переносили на питательную среду для поддержания и стимуляции корнеобразования (табл. 4)

Укоренение культивируемых в асептических условиях проростков наблюдалось на всех тестируемых средах, однако его эффективность сильно зависела как от состава среды, так и от генотипа. Наибольшая частота укоренения отмечена на МС + 0,1 мг/л ИУК (77,2 %) и МС + 0,5 мг/л БАП + 0,5 мг/л ИУК (70,4 %), которые статистически значимо превосходят остальные ( $p < 0,01$ ).

На средах с ИУК укоренение проростков происходило значительно хуже. Особенно низкие показатели зафиксированы для сред с высоким содержанием БАП (МС + 2 мг/л БАП + 0,1 мг/л ИУК), где в большинстве случаев

наблюдалось либо отсутствие корней, либо избыточное развитие стебля и побегов без корнеобразования (рис. 2). Так, у сортов ‘Чарльстон грэй’ и ‘Ольгинский’ не удалось добиться укоренения ни на одной из сред с ИУК. У некоторых сортов (например, ‘Подарок Солнца’, ‘Красавчик’) проростки формировали каллус в основании побега вместо полноценной корневой системы.

Наряду с этим, у нескольких сортов (например, ‘Чёрный принц’, ‘Красавчик’) хорошие результаты корнеобразования были достигнуты и на средах с комбинацией БАП + ИУК в средней концентрации (МС + 0,5 мг/л, БАП + 0,5 мг/л ИУК), где степень укоренения достигала 75-80%.



**Рис. 2. Индукция корнеобразования у проростков арбуза *Citrullus lanatus* на средах с различными комбинациями регуляторов роста**

а., б. – проростки на среде МС + 2 мг/л БАП + 0,1 мг/л ИУК;

в., г. – проростки на среде МС + 0,1 мг/л НУК

**Fig. 2. Root induction in watermelon *C. lanatus* seedlings on media with different combinations of growth regulators**

а.,б. – seedlings on MS medium supplemented with 2 mg/L BAP and 0.1 mg/L IAA;

в.,г. – seedlings on MS medium supplemented with 0.1 mg/L NAA

**Каллусогенез.** Каллусообразование оценивали у восьми сортов арбуза ('Адам' на каллус не закладывали) (табл. 5) с использованием четырёх вариантов питательных сред (см. табл. 2). Данные приведены как «число успешных эксплантов/ общее число эксплантов (% индукции)». Среда МС + 0,5 мг/л БАП + 0,1 мг/л 2,4-Д (72,6%) показала лучшие результаты по сравнению с МС + 2 мг/л БАП + 0,1 мг/л 2,4-Д (56,0%,  $p = 0,036$ ) и МС + 0,5 мг/л БАП + 0,1 мг/л ТДЗ (50,0%,  $p = 0,004$ ). Наиболее эффективной оказалась среда МС + 0,5 мг/л БАП + 0,1 мг/л 2,4-Д: частота индукции каллуса превы-

шала 80% у 'Подарка Солнца' (83%), 'Чёрного принца' (83%), 'Сюрприза' (81%) и 'Красавчика' (83%). Среда МС + 1,0 мг/л 2,4-Д также показала хорошую эффективность 62%-88% у сортов 'Благодатный', 'Ольгинский', 'Сюрприз', 'Красавчик', 'Подарок солнца', 'Черный принц', 'Чарльстон грэй'. Комбинации с ТДЗ или повышенным БАП обеспечивали индукцию каллуса в 56-75% случаев у сортов с высокой отзывчивостью и лишь в 38% у сортов со средней отзывчивостью ('Ольгинский', 'Благодатный'). Самый низкий отклик (12%) продемонстрировал сорт 'Святослав'.

**Таблица 4. Оценка укоренения побегов арбуза (*Citrullus lanatus*) на различных средах**  
**Table 4. Evaluation of root formation in watermelon (*C. lanatus*) shoots on different culture media**

Название сорта/ Cultivar name	Состав питательных сред/ Culture media composition				
	МС + 2 мг/л БАП + 0,1 мг/л ИУК	МС + 0,5 мг/л БАП + 0,5 мг/л НУК	МС + 0,1 мг/л ИУК	МС + 0,1 мг/л НУК	МС + 2 мг/л БАП + 0,1 мг/л НУК
‘Подарок Солнца’	9% (1/11)	80% (8/10)	10% (1/10)	70% (7/10)	80% (8/10)
‘Чёрный принц’	70% (7/10)	80% (8/10)	30% (3/10)	80% (8/10)	80% (8/10)
‘Ольгинский’	0% (0/8)	75% (6/8)	14% (1/7)	88% (7/8)	75% (6/8)
‘Сюрприз’	7% (1/14)	54% (7/13)	15% (2/13)	69% (9/13)	62% (8/13)
‘Чарльстон грэй’	0% (0/9)	75% (6/8)	13% (1/8)	88% (7/8)	88% (7/8)
‘Святослав’	0% (0/7)	57% (4/7)	0% (0/8)	83% (5/6)	0% (0/8)
‘Благодатный’	0% (0/7)	63% (5/8)	0% (0/7)	75% (6/8)	0% (0/9)
‘Адам’	0% (0/5)	80% (4/5)	0% (0/5)	80% (4/5)	0% (0/6)
‘Красавчик’	50% (6/12)	75% (9/12)	18% (2/11)	73% (8/11)	82% (9/11)

**Примечания:** в скобках указано число укоренившихся побегов/общее число побегов, посаженных на данную среду.

Процент рассчитан как (укоренившиеся ÷ общее) × 100

**Notes:** The number of rooted shoots/total number of shoots planted on a given medium is in parentheses.

The percentage calculated as (rooted ÷ total) × 100

**Таблица 5. Индукция каллусообразования на эксплантах из семядолей арбуза**  
**Table 5. Induction of callus formation on explants from watermelon cotyledons**

Название сорта/ Cultivar name	Состав питательных сред/ Culture media composition			
	МС + 0,5 мг/л БАП + 0,1 мг/л 2,4-Д	МС + 2 мг/л БАП + 0,1 мг/л 2,4-Д	МС + 0,5 мг/л БАП + 0,1 мг/л ТДЗ	МС + 1,0 мг/л 2,4-Д
‘Подарок Солнца’	10/12 (83%)	8/12 (67%)	7/12 (58%)	9/12 (75%)
‘Чёрный принц’	10/12 (83%)	8/12 (67%)	7/12 (58%)	9/12 (75%)
‘Ольгинский’	4/8 (50%)	3/8 (38%)	3/8 (38%)	5/8 (62%)
‘Сюрприз’	13/16 (81%)	10/16 (62%)	9/16 (56%)	11/16 (69%)
‘Чарльстон грэй’	8/8 (100%)	6/8 (75%)	5/8 (62%)	7/8 (88%)
‘Красавчик’	10/12 (83%)	8/12 (67%)	7/12 (58%)	9/12 (75%)
‘Святослав’	2/8 (25%)	1/8 (12%)	1/8 (12%)	2/8 (25%)
‘Благодатный’	4/8 (50%)	3/8 (38%)	3/8 (38%)	5/8 (62%)

**Примечания:** число эксплантов, образовавших каллус/общее число эксплантов на

данной среде; процент вычислен как (каллус ÷ общее) × 100

**Notes:** Number of explants that formed callus/total number of explants on a given medium;

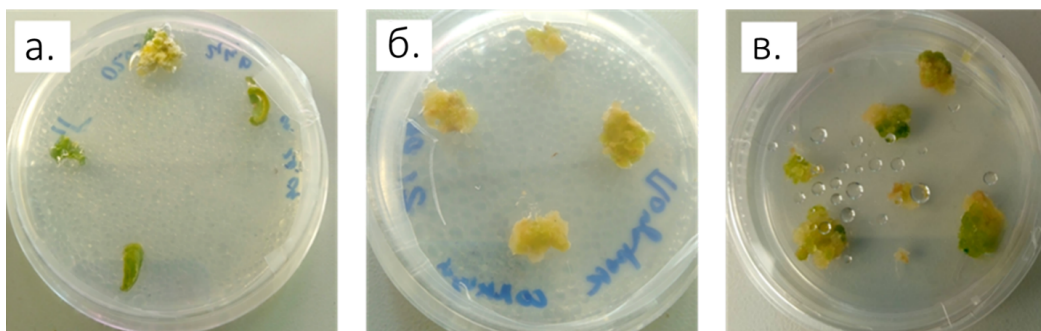
percentage calculated as (callus ÷ total) × 100

В процессе эксперимента производили чередование гормональных и безгормональных сред для каллусных культур с интервалом 30-45 дней, чтобы поддерживать жизнеспособность тканей. Всего было проведено до 12-14 пассажей в течение 7-9 месяцев. Самая высокая жизнеспособность наблюдалась у сортов ‘Красавчик’ и ‘Чёрный принц’: каллус оставался плотным, светло зеленым и активно наращивал массу в течение всего периода (до 9 месяцев). У сортов ‘Ольгинский’ и ‘Святослав’ уже к 4-5-му субкультивированию отмечалось пожелтение каллуса и замедление его роста. В случае пожелтевшего каллуса применяли МС, дополненную 0,1 мг/л ТДЗ

и 0,5 мг/л БАП: уже через 2-3 недели наблюдалось восстановление зеленого пигмента (рис. 3).

**Органогенез каллусной ткани у различных сортов арбуза на питательных средах.** Получение жизнеспособных растений из недифференцированных каллусных клеток является необходимым этапом для многих биотехнологических методик, используемых для ускорения селекции. В данном исследовании была изучена способность эксплантов растений арбуза, принадлежащих разным сортам, к регенерации на средах с различными комбинациями цитокининов и ауксинов, таких как БАП, НУК и 2,4-Д (рис. 4).

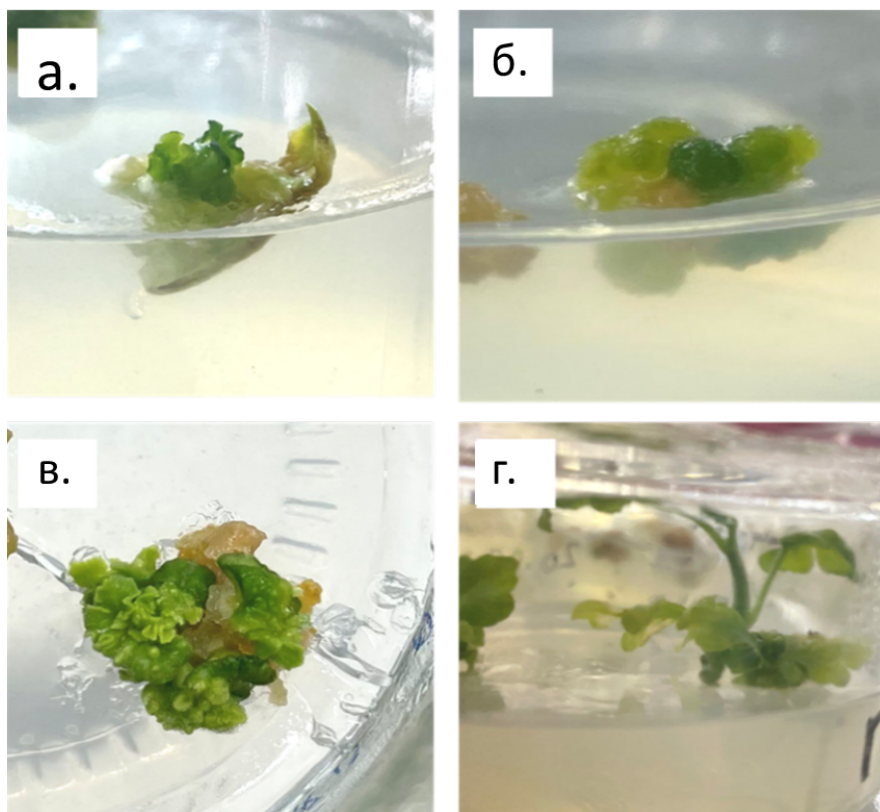




**Рис. 3. Этапы формирования каллуса у сорта арбуза ‘Подарок солнца’**  
 а. – индукция каллусообразования на среде МС + 0,5 мг/л БАП + 0,1 мг/л 2,4-Д (21 день культивирования),  
 б. – рыхлый жёлтый каллус после перенесения на безгормональную МС (35 дней после пересадки),  
 в. – реактивация пожелтевшего каллуса на среде МС + 0,1 мг/л ТДЗ (7 дней после пересадки)

**Fig. 3. Stages of callus formation in watermelon ‘Podarok solntsa’**

- а. – callus induction on MS + 0.5 mg/L BAP + 0.1 mg/L 2,4-D (21 days of cultivation),  
 б. – loose yellow callus after transfer to hormone-free MS (day 35),  
 в. – reactivation of yellowed callus on MS + 0.1 mg/L TDZ (day 7 after transfer)



**Рис. 4. Регенерация побегов из каллуса сорта арбуза ‘Черный принц’ на среде МС + 2 мг/л БАП + 0,2 мг/л НУК**

- а., б. – начальная стадия регенерации;  
 в. – формирование первых листьев полноценного побега (24 день после пересадки);  
 г. – общий вид регенеранта на поздних стадиях (30 дней и более после пересадки)

**Fig. 4. Regeneration of shoots from callus of watermelon ‘Cherniy prince’ on MS + 2 mg/L BAP + 0.2 mg/L NAA**

- а., б. – initial stage of regeneration;  
 в. – formation of the first leaves of a fully developed shoot (day 24 after transfer);  
 г. – overall view of regeneration at later stages (30 and more days after transfer)

На этапе регенерации из каллуса было испытано пять цитокинин-ауксиновых комбинаций. МС + 2 мг/л БАП + 0,2 мг/л НУК (87,5%) и МС + 0,5 мг/л БАП + 0,1 мг/л НУК (75%) обеспечили наибольшую частоту регенерации; среда МС + 2 мг/л БАП + 0,1 мг/л 2,4-Д (25 %) была

статистически менее эффективна ( $p = 0,041$ ). Наиболее универсальным оказался вариант культуральной среды МС + 2 мг/л БАП + 0,1 мг/л НУК – побеги формировались у 6 из 8 оценённых сортов (табл. 6).

**Таблица 6. Регенерация из каллуса на различных средах у сортов арбуза**

**Table 6. Regeneration from callus on various media in watermelon cultivars**

Название сорта/ Cultivar name	Состав питательных сред/ Culture media composition				
	МС + 0,5 мг/л БАП + 0,1 мг/л НУК	МС + 2 мг/л БАП + 0,1 мг/л НУК	МС + 2 мг/л БАП + 0,1 мг/л 2,4-Д	МС + 1 мг/л БАП + 0,5 мг/л НУК	МС + 2 мг/л БАП + 0,2 мг/л НУК
‘Подарок Солнца’	+	–	+	+	+
‘Чёрный принц’	–	+	–	–	+
‘Ольгинский’	+	+	–	–	+
‘Сюрприз’	+	+	–	+	+
‘Чарльстон грэй’	–	–	+	–	+
‘Красавчик’	+	–	–	+	+
‘Святослав’	+	–	–	–	–
‘Благодатный’	+	–	–	–	+

**Примечания:** + успешная регенерация, – отсутствие регенерантов

**Notes:** “+” signifies successful regeneration; “–” signifies the absence of regenerants

У таких сортов как ‘Подарок Солнца’, ‘Сюрприз’ и ‘Красавчик’ регенерация происходила на всех проверенных средах, тогда как сорта ‘Чёрный принц’ и ‘Чарльстон грэй’ ответили только на повышенное содержание БАП (2 мг/л). Сорт ‘Святослав’ дал побеги исключительно при низком содержании БАП (0,5 мг/л), в случае сорта ‘Благодатный’ требовалось повышение концентрации НУК (0,2 мг/л).

### Обсуждение

Разработанные нами протоколы введения арбуза в культуру *in vitro* демонстрируют эффективность, сравнимую с результативностью уже опубликованных протоколов. Различия в эффективности введения в культуру *in vitro*, каллусообразования и регенерации между питательными средами связаны с различным физиологическим действием регуляторов роста. Цитокинины (БАП) стимулируют деление клеток и формирование каллуса, что особенно выражено на средах с низким содержанием синтетического ауксина 2,4-Д. Напротив, высокое содержание цитокининов может угнетать морфогенез у некоторых сортов. НУК способствовала эффективному укоренению побегов, тогда как ИУК в тех же концентрациях была значительно менее результативной, что согласуется с данными литературы о её меньшей стабильности и слабом стимулирующем эффекте у бахчевых культур. Различия в реакции на регуляторы роста между сортами отражают генотип-специфичную чувствитель-

ность к регуляторам роста, что неоднократно отмечалось для культур Cucurbitaceae (Compton, Gray, 1993a; Krug et al., 2005).

В настоящем исследовании для индукции каллусообразования и регенерации мы использовали среды МС с добавлением БАП в концентрации от 0,5 мг/л до 2 мг/л в сочетании с НУК (0,1-0,5 мг/л) или 2,4-Д (0,1 мг/л). Нами получены высокие показатели (до 100 %) на среде МС + 0,5 мг/л БАП + 0,1 мг/л 2,4-Д так же, как и в работах других исследователей (Wang et al. 2013), которые рекомендовали питательную среду с БАП и 2,4-Д для индукции образования каллуса у эксплантов арбуза в условиях *in vitro*. В ряде работ по культивированию представителей семейства Cucurbitaceae в асептических условиях отмечена эффективность цитокининов для стимулирования органогенеза, что подтверждается и в настоящем исследовании: регенерация происходила у большинства сортов на средах с БАП (0,5-2,0 мг/л) и НУК (0,1-0,2 мг/л). В отличие от исследования, в котором использовали МС + 2 мг/л БАП как универсальную среду для микроклонального размножения (Wang et al., 2013), в нашей работе выявлена высокая сортоспецифичная чувствительность к гормональному составу, особенно на этапе поддержания растений в условиях *in vitro* и на стадии корнеобразования. Например, на средах с ИУК укоренение было значительно ниже, чем на средах с НУК, что согласуется с данными других исследователей, полученными для культуры тыквенных (Abdollahi et al., 2016). Проведённое нами исследование продемонстрирова-

ло, что эффективность введения в культуру и регенерации у арбуза в значительной степени определяется сочетанием состава питательной среды и генотипа растения. Это может говорить о различиях в гормональной регуляции морфогенеза у отдельных сортов, определяющих их разную отзывчивость на состав питательной среды. Системный анализ реакций различных сортов позволил выделить наиболее универсальные и наиболее чувствительные к составу среды генотипы, что открывает возможности для модификации методики с учётом конкретного генетического фона и последующего использования этих схем в программах по трансформации.

Таким образом, предложенные протоколы питательных сред не только подтверждают результаты предыдущих исследований, но и уточняют эффективные концентрации регуляторов роста для устойчивой индукции органогенеза и каллусообразования у различных сортов арбуза, различающихся генотипически.

### Заключение

Проведенное исследование позволило успешно адаптировать и модифицировать протоколы для введения в культуру *in vitro*, каллусогенеза и регенерации растений арбуза *Citrullus lanatus* девяти сортов селекции ВИР. Полученные результаты подтверждают значимость подбора оптимального гормонального состава питательных сред, поскольку была выявлена сортоспецифичная реакция растений на сочетание ауксинов и цитокининов, что оказывает решающее влияние на эффективность процессов культивирования.

Таким образом, результаты исследования вносят вклад в понимание гормональных основ введения в культуру *in vitro*, каллусогенеза и регенерации эксплантов арбуза. Полученные данные позволяют расширить базу знаний о генотип-специфичных реакциях сортов и облегчают дальнейшую оптимизацию процедур, необходимых для успешного применения биотехнологических методов в селекции и сохранении генофонда арбуза. Практическое значение данных результатов заключается в создании основ для более эффективных протоколов получения жизнеспособных растений арбуза. Кроме того, установленные оптимальные условия культивирования могут быть применены для сохранения ценных генотипов в *in vitro* коллекциях и повышения воспроизводимости результатов биотехнологических разработок. Полученные знания могут быть использованы при разработке систем генетической трансформации и редактирования генома CRISPR/Cas, ускоряющих селекционные программы.

### References/Литература

Abdollahi M.R., Najafi S., Sarikhani H., Moosavi S.S. Induction and development of anther-derived gametic embryos in cucumber

- (*Cucumis sativus* L.) by optimizing the macronutrient and agar concentrations in culture medium. *Turkish Journal of Biology*. 2016;40(3):571-579. DOI: 10.3906/biy-1502-55
- Badr-Elden A.M., Nower A.A., Ibrahim I.A., Ebrahim M.K., & Elaziem T.M. Minimizing the hyperhydricity associated with *in vitro* growth and development of watermelon by modifying the culture conditions. *African Journal of Biotechnology*. 2012;11(35):8705-8717. DOI: 10.5897/AJB11.4276
- Compton M.E., Gray D.J. Shoot organogenesis and plant regeneration from cotyledons of diploid, triploid, and tetraploid watermelon. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 1993a;118(1):151-157. DOI: 10.21273/JASHS.118.1.151
- Compton M.E., Gray D.J. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature cotyledons of watermelon. *Plant Cell Reports*. 1993b;12(2):61-65. DOI: 10.1007/BF00241935
- Dong J.Z., Jia S.R. High-efficiency plant regeneration from cotyledons of watermelon (*Citrullus vulgaris* Schrad). *Plant Cell Reports*. 1991;9(10):559-562. DOI: 10.1007/BF00232331
- Hamdeni I., Louhaichi M., Slim S., Bouila A., Bettaieb T. Incorporation of organic growth additives to enhance *in vitro* tissue culture for producing genetically stable plants. *Plants*. 2022;11(22):3087. DOI: 10.3390/plants11223087
- Khatun M.M., Hossain M.S., Khalekuzzaman M., Rownaq A., Rahman M. *In vitro* plant regeneration from cotyledon and internodes derived callus in watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb.). *International Journal of Sustainable Crop Production*. 2010;5(4):25-29.
- Krug M.G.Z., Stipp L.C.L., Rodriguez A.P.M., Mendes B.M.J. *In vitro* organogenesis in watermelon cotyledons. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 2005;40(9):861-865. DOI: 10.1590/S0100-204X2005000900004
- Li J., Li X.M., Qin Y.G., Tang Y., Wang L., Ma C., Li H.X. Optimized protocol for plant regeneration of watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb.). *African Journal of Biotechnology*. 2011;10(48):9760-9765. DOI: 10.5897/AJB11.550
- Liu C., Guo Y., Li H., Fan Y., Wang J., Liu J., Zhang H. Establishment of a shoot-tip regeneration system of watermelon. *HortScience*. 2024;59(9):1419-1421. DOI: 10.21273/HORTSCI18094-24
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15(3):473-497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- Sultana R.S., Bari M.A. Effect of different plant growth regulators on direct regeneration of watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb.). *Plant Tissue Culture*. 2003;13(2):173-177.
- Tekhanovich G.A., Yelatskova A.G., Yelatskov Y.A. The role of VIR's global collection of cucurbitaceous crops in plant breeding. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2012;169:289-294. [in Russian] (Теханович Г.А., Елацкова А.Г., Елацков Ю.А. Роль мировой коллекции бахчевых культур ВИР в селекции. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2012;169:289-296.)
- Tekhanovich G.A., Elatskova A.G., Elatskova Yu.A. Genetic sources for breeding bushy and short-vine watermelon cultivars. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2019;180(2):89-94. [in Russian] (Теханович Г.А., Елацкова А.Г., Елацкова Ю.А. Генетические источники для селекции кустовых и короткоплетистых сортов арбуза. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2019;180(2):89-94). DOI: 10.30901/2227-8834-2019-2-89-94
- Venkatachalam P., Jinu U., Sangeetha P., Geetha N., Sahi S.V. High-frequency plant regeneration from cotyledonary node explants of *Cucumis sativus* L. 'Green Long' via adventitious shoot organogenesis and assessment of genetic fidelity by RAPD-PCR. *3 Biotech*. 2018;8(1):60. DOI: 10.1007/s13205-018-1083-8
- Wang X., Shang L., Luan F. A highly efficient regeneration system for watermelon (*Citrullus lanatus*). *Pakistan Journal of Botany*. 2013; 45(1):145-150.
- Yalcin-Mendia N.Y., Ipek M., Kacan H., Curuk S., Sari N., Cetiner S., Gaba V. A histological analysis of regeneration in watermelon. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*. 2003;12(2):75-79. DOI: 10.1007/BF03263176

---

### ***Информация об авторах***

**Анастасия Вадимовна Иноземцева**, аспирант, младший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, a.inozemtseva@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0009-0005-8881-8791>

**Анастасия Ярославовна Евлаш**, младший научный сотрудник, Научно-технологический университет «Сириус», Научный центр генетики и наук о жизни, 354340 Россия, Краснодарский край, Федеральная территория «Сириус», Олимпийский пр., 1, evlash-nastja@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0246-8929>

**Анна Генриховна Елацкова**, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Кубанская опытная станция – филиал ВИР, 352183 Россия, Краснодарский край, п. Ботаника, ул. Центральная, 2, elatskova.a@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9735-8700>

**Елена Константиновна Хлесткина**, доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, директор, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44; Научно-технологический университет «Сириус», Научный центр генетики и наук о жизни, 354340 Россия, Краснодарский край, Федеральная территория «Сириус», Олимпийский пр., 1, director@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8470-8254>

**Наталья Альбертовна Швачко**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, и.о. заместителя директора по научно-организационной работе, и.о. заведующего, лаборатория постгеномных исследований, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, n.shvachko@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1958-5008>

### ***Information about the authors***

**Anastasiia V. Inozemtseva**, Postgraduate Student, Junior Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, a.inozemtseva@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0009-0005-8881-8791>

**Anastasia Ya. Evlash**, Junior Researcher, Sirius University of Science and Technology, Research Center of Genetics and Life Sciences, 1, Olimpiysky Avenue, Sirius Federal Territory, Krasnodar Region, 354340 Russia, evlash-nastja@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0246-8929>

**Anna G. Elatskova**, Cand. Sci. (Agriculture), Senior Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), Kuban Experiment Station, Station – Branch of VIR, 2, Tsentralnaya Street, Botanika Settlement, Krasnodar Region, 352183 Russia, elatskova.a@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9735-8700>

**Elena K. Khlestkina**, Dr. Sci. (Biology), Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia; Sirius University of Science and Technology, Research Center of Genetics and Life Sciences, 1, Olimpiysky Avenue, Sirius Federal Territory, Krasnodar Region, 354340 Russia, khlest@bionet.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8470-8254>

**Nataliya A. Shvachko**, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Acting Deputy Director for Scientific and Organizational Work, Acting Head, Laboratory of Postgenomic Research, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, n.shvachko@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1958-5008>

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interests:** the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 20.06.2025; одобрена после рецензирования 25.08.2025; принята к публикации 22.09.2025.

The article was submitted on 20.06.2025; approved after reviewing on 25.08.2025; accepted for publication on 22.09.2025.





## Определение аллельного состава гена *S-RNase* у образцов коллекции груши, поддерживаемой на Майкопской опытной станции ВИР

А. О. Гончаренко, Л. В. Багмет, М. Н. Петрова, О. Ю. Антонова

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

**Автор, ответственный за переписку:** Анастасия Олеговна Гончаренко, aogoncharenko97@gmail.com

**Актуальность.** Груша (*Pyrus* L.) – одна из важнейших плодовых культур, широко распространённых в мире. При этом в Европе и исторически с ней связанных странах (США, Австралия) выращиваются сорта одного одомашненного вида *Pyrus communis* L., а в азиатском регионе (Китай, Корея, Япония, Дальний Восток) культурные сорта создавались на базе отдельных ботанических видов, прежде всего *P. pyrifolia* (Burm.fil.) Nakai, *P. bretschneideri* Rehder., *P. ussuriensis* Maxim. и *P. × sinkiangensis* T.T. Yu. Одним из важнейших центров формирования сортифта груши европейской считают кавказский регион. Сосредоточение на Кавказе большого числа видов с перекрывающимися ареалами способствовало интенсивной межвидовой гибридизации и появлению полигибридных форм, которые могли использоваться в народной селекции. Коммерческое выращивание груши сталкивается с рядом трудностей, среди которых не последнее место занимает самонесовместимость сортов. Гаметофитная самонесовместимость у груши контролируется S-локусом, который включает в себя ген *S-RNase* и множество генов *SFBB*. Эти гены отличаются высоким уровнем полиморфизма, поэтому изучение S-локуса может быть применено не только для подбора опылителей в коммерческих садах груши, но и для молекулярного S-генотипирования. Целью данной работы была характеристика коллекции груши, поддерживаемой на Майкопской ОС – филиале ВИР, и прежде всего местных стародавних сортов кавказского и крымского происхождения, при помощи различных систем маркеров аллелей S-локуса. **Материалы и методы:** изучена выборка, состоящая из 194 образцов, включающая 182 сорта и четыре гибридные формы из коллекции Майкопской опытной станции – филиала ВИР, а также восьми образцов, собранных в рамках экспедиции ВИР по Северному Кавказу в 2022 году. Основными анализируемыми группами были сорта европейской селекции (49) и селекционных учреждений Кавказа (63), местные кавказские сорта (46) и группа крымских сортов (13). В работе были использованы консенсусные РусomC1/РусomC5 и аллель-специфичные праймеры, подобранные по данным из литературы. **Результаты:** при помощи обеих систем молекулярных маркеров нам удалось дифференцировать в выборке 25 различных аллелей S-локуса. Семь аллелей ( $S_{101}$ ,  $S_{102}$ ,  $S_{103}$ ,  $S_{104-1}$ ,  $S_{104-2}$ ,  $S_{108}$  и  $S_{122}$ ) присутствовали в выборке с частотой  $\geq 10\%$ , различия между частотами некоторых из них были статистически значимыми в группах местных кавказских, европейских и крымских сортов. Также данные группы различались по наличию редких и уникальных аллелей и по присутствию большого количества триплоидных форм. **Заключение:** в результате молекулярного скрининга значительной выборки образцов груши различного происхождения было установлено аллельное разнообразие S-локуса и выявлено своеобразие сортов народной селекции Кавказа и Крыма. Местные сорта с оригинальным профилем S-аллелей могут являться ценным материалом для селекции.

**Ключевые слова:** *Pyrus* L. sp., сорта народной селекции, S-локус, молекулярные маркеры, S-аллельный полиморфизм, самонесовместимость

**Благодарности:** Работа выполнена в рамках Государственных заданий согласно тематическому плану ВИР по темам №1021032424343-9-4.4.4 FGEM-2022-0008 и №1021032424911-4-4.1.1;4.4.4 FGEM-2022-0006

**Для цитирования:** Гончаренко А.О., Багмет Л.В., Петрова М.Н., Антонова О.Ю. Определение аллельного состава гена *S-RNase* у образцов коллекции груши, поддерживаемой на Майкопской опытной станции ВИР. *Биотехнология и селекция растений*. 2025;8(3):19-31. DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-02

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

© Гончаренко А.О., Багмет Л.В., Петрова М.Н., Антонова О.Ю., 2025

## Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-o2

# Determination of the *S-RNase* gene allelic composition in pear accessions of the collection maintained at the Maikop Experiment Station of VIR

Anastasiia O. Goncharenko, Larisa V. Bagmet, Marina N. Petrova, Olga Yu. Antonova

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

Corresponding author: Anastasiia O. Goncharenko, aogoncharenko97@gmail.com

**Background:** Pear (*Pyrus* L.) is one of the most important fruit crops, widespread in the world. While in Europe and historically associated countries (USA, Australia), cultivars of one domesticated species *Pyrus communis* L. are grown, in the Asian region (China, Korea, Japan, Far East), cultivars were created based on individual botanical species, primarily *Pyrus pyrifolia* (Burm.fil.) Nakai, *P. bretschneideri* Rehder., *P. ussuriensis* Maxim., and *P. × sinkiangensis* T.T. Yu. The Caucasus region is considered as one of the most important centers for the formation of European pear cultivars. The concentration of a large number of species with overlapping ranges in the Caucasus promoted intensive interspecific hybridization and the emergence of polyhybrid forms that could be used in folk breeding. Commercial pear cultivation faces a number of difficulties, not the least of which is the self-incompatibility of cultivars. Gametophytic self-incompatibility in pear is controlled by the *S*-locus, which includes the *S-RNase* gene and multiple *SFBB* genes. These genes are highly polymorphic, so the study of the *S*-locus applies not only to the selection of pollinators in commercial pear orchards, but also to molecular *S*-genotyping. The aim of this work was to characterize the pear collection maintained at the VIR Maikop Experiment Station, and primarily landraces of Caucasian and Crimean origin, using various systems of *S*-locus allele markers. **Materials and methods:** we studied a subset of 194 accessions, including 182 cultivars and four hybrid forms from the collection of the Maikop Experiment Station of VIR, as well as eight accessions collected as part of the VIR expedition to the North Caucasus in 2022. The main analyzed groups were cultivars bred in Europe (49), those created by breeding institutions in the Caucasus (63), local Caucasian cultivars (46) and a group of Crimean cultivars (13). In the work, we used consensus PycomC1/PycomC5 and allele-specific primers selected from the literature data. **Results:** using both molecular marker systems, we were able to identify 25 *S*-alleles in the subset. Seven alleles ( $S_{101}$ ,  $S_{102}$ ,  $S_{103}$ ,  $S_{104-1}$ ,  $S_{104-2}$ ,  $S_{108}$  and  $S_{122}$ ) were present with a frequency of  $\geq 10\%$ , the differences between frequencies of some of them were statistically significant in groups of local Caucasian, European and Crimean cultivars. These groups also differed in the presence of rare and unique alleles and in the presence of a large number of triploid forms. **Conclusion:** molecular screening of a large subset of pear accessions has established the allelic diversity of the *S*-locus and the uniqueness of the folk cultivars from the Caucasus and Crimea. Local cultivars with the original *S*-allele profile can be valuable material for breeding.

**Keywords:** *Pyrus* L. sp., folk cultivars, *S*-locus, molecular markers, *S*-allelic polymorphism, self-incompatibility

**Acknowledgements:** The work was carried out within the framework of State assignments in accordance with the Thematic Plan of VIR on topics No. 1021032424343-9-4.4.4 FGEM-2022-0008 and No. 1021032424911-4-4.1.1;4.4.4 FGEM-2022-0006

**For citation:** Goncharenko A.O., Bagmet L.V., Petrova M.N., Antonova O.Yu. Determination of the *S-RNase* gene allelic composition in pear accessions of the collection maintained at the Maikop Experiment Station of VIR. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2025;8(3):19-31. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-o2

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

© Goncharenko A.O., Bagmet L.V., Petrova M.N., Antonova O.Yu., 2025

## Введение

Груша (*Pyrus* L.) является одной из наиболее экономически важных плодовых культур с годовым мировым производством ~ 26,5 миллионов тонн (FAOSTAT, 2025). При этом в мире выращивают две группы груш: азиатские и европейские. Предполагается, что они были одомашнены независимо. В Восточной Азии, которая считается первичным центром формирования рода *Pyrus*, культурные сорта создавались на базе отдельных ботанических видов, прежде всего *Pyrus pyrifolia* (Burm.fil.) Nakai (груша грушелистная или японская), *P. bretschneideri* Rehder (груша Бретшнейдера или китайская белая груша), *P. ussuriensis* Maxim. (груша уссурийская) и *P. × sinkiangensis* T.T. Yu (груша Синьцзяна). Признаки этих видов прослеживаются и в полученных с их участием сортах (Tuz, 1983; Wu et al., 2018). Сорта груши европейской относятся к одному одомашненному виду *P. communis* L. (груша обыкновенная) (Bell, 1991), однако многие авторы считают, что этот вид имеет полигибридную природу. Основным видом, давшим начало *P. communis*, считается *P. pyraeaster* Burgsd., но в её формировании также принимали участие и другие виды: *P. elaeagnifolia* Pall., *P. nivalis* Jacq., *P. salicifolia* Pall., *P. syriaca* Boiss (Vavilov, 1931; Rubtsov, 1940; Tuz, 1983).

Одним из важнейших центров формирования сортикета груши европейской считают кавказский регион (Vavilov, 1931). На его территории культурная груша *P. communis* выращивается в непосредственной близости от диких видов груши, таких как, например, *P. caucasica* Fed. (груша кавказская), *P. elaeagnifolia* (груша лохолистная), *P. nivalis* (груша снежная), *P. pyraeaster*. Сосредоточение на Кавказе большого числа видов с перекрывающимися ареалами способствовало интенсивной межвидовой гибридизации и появлению полигибридных форм, которые могли использоваться в народной селекции (Tuz, 1983). При этом местные сорта в кавказском регионе раньше поддерживали путем прививок культурных форм в кроны дикорастущих деревьев.

На Майкопской опытной станции – филиале ВИР в настоящее время находится обширная коллекция, более 1000 образцов, в которой представлено 30 видов рода *Pyrus* из основных центров произрастания. Особый интерес представляет большое количество, около 120 образцов, сохраняемых староместных сортов народной селекции Кавказа и Крыма.

Промышленное выращивание груши сталкивается с рядом трудностей, таких как поражение грибными и бактериальными заболеваниями, неустойчивость к весенним заморозкам и к засухе, среди которых особо выделяется проблема самостерильности большинства сортов. Для получения стабильных урожаев в коммерческих садах используют особую систему размещения деревьев, где помимо основного сорта на участке высаживают сорта-опылители, которые являются донорами пыльцы для производственных деревьев. При подбо-

ре сортов-опылителей следует соблюдать определённые факторы, прежде всего сроки цветения и уборки. Идентификация S-аллелей у промышленных сортов и гибридных форм груши значительно облегчает процесс подбора опылителей, поэтому его изучению придается большое значение во всем мире (Claessen et al., 2019). Кроме того, мультиаллельность генов S-локуса может быть использована для генетической характеристики сортов в качестве дополнительных маркеров при молекулярном генотипировании, а также для выяснения происхождения сортов (Gharehaghaji et al., 2014; Suprun et al., 2014; Bennici et al., 2020).

Для груши, как и для других видов семейства Rosaceae, характерна самонесовместимость гаметофитного типа (GSI), которая определяется генотипом самой гаплоидной пыльцы, мужского гаметофита, на стадии пыльцевой трубки. Генетический контроль GSI у розоцветных в основном осуществляется S-локусом, кроме того, известен ряд генов-модификаторов (Wu et al., 2013). В наиболее простом варианте S-локус состоит из гена *S-RNase*, продукты которого работают в тканях пестика и катализируют деградацию РНК в прорастающей пыльцевой трубке, и гена *SFB*, экспрессирующегося в самой пыльцевой трубке. Продуктом последнего является белок SFB (от англ. S-specific F-box protein). При совпадении аллелей S-локуса в пестике (у спорофита) и в пыльцевом зерне (у гаметофита) рост пыльцевых трубок блокируется, соответственно, прорости могут только пыльцевые зерна с S-аллелями, отличающимися от двух S-аллелей в тканях пестика (Marchese et al., 2007).

В структуре гена *S-RNase* у рода *Pyrus* выделяют пять небольших консервативных областей (C1-C5) и одну гипервариабельную область (гипервариабельная область Rosaceae, RHV), которая содержит единственный высоко полиморфный по длине интрон. Все консервативные районы в генах *S-RNase* розоцветных показывают высокое сходство последовательностей с аналогичными районами у других культур, в частности, пасленовых. Исключение составляет район C4, который был переименован в «Консервативный район Rosaceae 4» (RC4) (Zisovich et al., 2004).

Характерной особенностью S-локуса у рода *Pyrus* является присутствие не одного гена *SFB*, а нескольких (18-20) таких генов, получивших название *SFBB* (*S-locus F-Box Brothers*). Впервые наличие множества генов *SFBB*, окружающих единственный ген *S-RNase*, было показано для груши японской (*P. pyrifolia*) с использованием секвенирования ВАС-клонов (Sassa et al., 2007). S-гаплотипы груши могут демонстрировать значительные различия в положении и ориентации генов *SFBB* относительно гена *S-RNase* (Okada et al., 2011). Более того, некоторые последовательности *SFBB* проявляют неполную связь с геном *S-RNase*, что позволяет предположить, что их положение выходит за пределы геномной области, которую можно строго определить как S-локус (De Franceschi et al., 2011a).

В настоящий момент считается, что каждый белок

SFBB специфически связывает один или несколько продуктов аллельных вариантов гена *S-RNase*, помечая их для деградации. Согласованное действие продуктов генов *SFBB* в пределах *S*-гаплотипа обеспечит возможность связывать все варианты РНКазы, кроме «своего»; только этот последний будет функционально активен и будет обеспечивать деградацию собственной пыльцы (Kubo et al., 2010). В соответствии с этой гипотезой, степень аллельного полиморфизма каждого отдельного гена *SFBB* намного ниже, чем у гена *S-RNase* (De Franceschi et al., 2011b; Aguiar et al., 2013); действительно, в некоторых случаях идентичные последовательности *SFBB* были обнаружены у разных *S*-гаплотипов (Minamikawa et al., 2010).

Полиморфизм в *S*-локусе у груши увеличивает присутствие многочисленных транспозоноподобных элементов, которые, как предполагается, дополнительно способствуют подавлению мейотической рекомбинации между генами *S-RNase* и *SFBB* (Okada et al., 2011).

В ранних исследованиях группы совместимости груши определяли путем контролируемых скрещиваний, после чего степень совместимости оценивалась на основе роста пыльцевой трубки или завязывания плодов, или комбинации того и другого (Lewis, Modlibowska, 1942; Jaumien, 1968). Эти методы как вспомогательные используются и сегодня, но основным способом генотипирования стали технологии молекулярно-генетического анализа. При этом создание систем молекулярного генотипирования груши предпочтительно осуществляется с использованием последовательностей гена *S-RNase*, что прежде всего объясняется его более высокой вариабельностью по сравнению с генами *SFBB* (De Franceschi et al., 2011b; Aguiar et al., 2013). Ген *S-RNase* имеет несколько основных характеристик, делающих его очень удобным для молекулярного *S*-генотипирования. Прежде всего, пять консервативных областей (C1-C3, RC4 и C5) и расположенная сразу за гипервариабельной областью RHV последовательность, кодирующая гексапептидную область «IIWPNV», могут быть использованы для разработки консенсусных праймеров, осуществляющих амплификацию большого количества полиморфных фрагментов. При этом основой детектируемого полиморфизма является расположенный в RHV интрон переменного размера. Кроме того, значительная вариация последовательности позволяет применять для анализа методы аллель-специфичной ПЦР и/или рестрикционного картирования.

Для определения аллельного состава *S*-локуса у *P. communis* изначально были созданы консенсусные вырожденные праймеры МРyC1F и МРyC5R (Sanzol et al., 2006), специфичные для консервативных областей C1 и C5, то есть позволявшие амплифицировать почти всю последовательность гена. Маркеры генерировали стабильные ПЦР-продукты для аллелей  $S_1$ ,  $S_3$ ,  $S_4$  и  $S_5$ , которые в дальнейшем были клонированы и частично секвенированы. Позднее была разработана новая пара консенсусных праймеров PycomC1/PycomC5 (Sanzol, Robbins, 2008),

которая способна генерировать не менее 14 различных ПЦР-продуктов. Однако при использовании этих праймеров один и тот же ПЦР-фрагмент может соответствовать нескольким аллелям (Sanzol, Robbins, 2008). Поэтому по результатам секвенирования и выравнивания последовательностей, полученных для разных генотипов, было разработано большое количество аллель-специфичных праймеров (Sanzol, Robbins, 2008; Sanzol, 2009a; Gharehaghaji et al., 2014).

Японскими исследователями (Takasaki et al., 2006; Moriya et al., 2007) была создана оригинальная система CAPS-маркеров (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences), позволяющая дифференцировать у европейской груши 17 аллелей. Этот подход сочетает консенсусную ПЦР с использованием праймеров на основе консервативной области C1 и гексапептидной области «IIWPNV» и рестрикцию амплифицированных продуктов.

Полученные системы молекулярного маркирования широко используются для анализа полиморфизма аллелей гена *S-RNase* *S*-локуса у сортов груши европейской (Zuccherelli et al., 2002; Sanzol, Herrero, 2002; Zisovich et al., 2004; Takasaki et al., 2006; Sanzol et al., 2006; Moriya et al., 2007; Sanzol, Robbins, 2008; Goldway et al., 2009; Sanzol, 2009a; 2009b; Suprun et al., 2014). Однако, в связи с большим количеством таких работ, не было разработано единой системы обозначения *S*-аллелей. Изначально аллельные последовательности гена *S-RNase* были обозначены в соответствии с буквенной номенклатурой –  $S_a$ - $S_d$  и  $S_h$ - $S_p$  (Zuccherelli et al., 2002; Zisovich et al., 2004). Параллельно с этим другая группа исследователей использовала для обозначения цифровую номенклатуру (Sanzol, Herrero, 2002; Sanzol, Robbins, 2008; Sanzol, 2009a), и, в результате, большинство аллелей гена *S-RNase* у груши европейской имели более одного обозначения. Позднее путем выравнивания и сопоставления последовательностей аллелей из буквенной и цифровой номенклатуры для сортов груши европейской была предложена единая система, в которой номера аллелей начинаются с  $S_{101}$  (Goldway et al., 2009).

В настоящее время за счет различий в вариабельном районе гена *S-RNase* у груши европейской описано не менее 29 *S*-аллелей (Sanzol et al., 2006; Sanzol, 2009a; Goldway et al., 2009; Gharehaghaji et al., 2014; Bennici et al., 2020). Среди них по меньшей мере одна аллель –  $S_{121}^0$ , характеризующаяся вставкой транспозона в область интрона, ассоциирована с самофертильностью и может быть использована в селекционных программах (Sanzol, 2009b). Насколько нам известно, до сих пор нет маркеров для идентификации только трех аллелей –  $S_{118}^*$ ,  $S_{119}^*$ ,  $S_{120}^*$ .

Целью данной работы была характеристика коллекции груши, поддерживаемой на Майкопской ОС – филиале ВИР, и прежде всего местных стародавних сортов кавказского и крымского происхождения, при помощи различных систем маркеров аллелей *S*-локуса.



## Материалы и методы

**Материалом** для скрининга послужили 186 образцов груши из коллекции Майкопской ОС – филиала ВИР, в том числе 182 сорта и четыре гибридных образца. Дополнительно были изучены восемь образцов груши, собранных в рамках экспедиции ВИР по Северному Кавказу. Все отобранные для анализа образцы принадлежали к видам *Pyrus communis* и *P. caucasica*.

Полный список 194 образцов приведен в Приложении/Supplement<sup>1</sup>. Основу составили 109 кавказских сортов, из них 46 сортов народной селекции и 63 сорта, созданных в селекционных учреждениях Кавказа. Другая крупная подвыборка состояла из 49 сортов европейской селекции. Кроме того, в процессе анализа была выделена группа крымских сортов, представленная 13 образцами.

**Экстракцию ДНК** проводили из молодых листьев или почек побегов индивидуальных растений при помощи модифицированного СТАВ-метода (Antonova et al., 2020). В случае наличия полифенольных загрязнений растертые растительные ткани предварительно обрабатывали буфером на основе сорбитола (Inglis et al., 2018).

**Молекулярный скрининг.** Праймеры для работы были подобраны по опубликованным источникам информации. Мы использовали одну пару консенсусных праймеров PycomC1/PycomC5 (F: ATTTTCAATTTACGCGCAATATCA GC/ R: CTGCAAAGWSHGACCTCAACCAATTC) и аллель-специфичные праймеры для диагностики 26 различных аллелей гена *S-RNase* (табл. 1).

В случае консенсусных праймеров ПЦР осуществляли в 20 мкл реакционной смеси состава: 40 нг геномной ДНК, 1× реакционный буфер (Биолабмикс,

Кат. № SP020), 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,4 mM каждого из dNTP's, по 0,1 мкМ прямого и обратного праймеров, 1 U Taq-полимеразы (Биолабмикс, Россия).

Аллель-специфичную ПЦР проводили в тех же условиях, однако для разных праймеров варьировали концентрацию хлорида магния в реакционной смеси: в большинстве случаев она составляла 2,0 mM MgCl<sub>2</sub>, но для пар праймеров MPyC1F/PycomS2R, PycomC1F/PycomS6R, PycomS7F/PycomS7R, MPyC1F/PycomS10R и PycomC1F/PycomS14R использовали 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>. Программы ПЦР во всех случаях соответствовали указанным в литературе (см. табл. 1).

Рестрикцию ПЦР-продуктов проводили в течение ночи по протоколу фирмы-изготовителя (СибЭнзим, Россия). Вместо эндонуклеазы рестрикции Avr II был использован её изоизомер AspA2 I.

После рестрикции полученные фрагменты разделяли путем электрофореза в 2% агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, в буфере 1×TBE при напряжении в камере 5 В/см. Был использован маркер молекулярного веса ДНК Step 100 Long (Биолабмикс, Россия). Для визуализации использовали систему Gel-Doc XR, (Bio-Rad, США). Электрофорез ПЦР-продуктов, амплифицированных с использованием консенсусных праймеров, проводили в течение 8-10 часов, что позволило обеспечить четкую идентификацию фрагментов.

**Статистические методы.** Для сопоставления частоты встречаемости маркеров использовали точный тест Фишера (Fisher, 1922).

Для оценки уровня полиморфизма применяли индекс PIC (Polymorphic Index Content), вычисляя значение по формуле  $PIC = 1 - \sum(p_i^2)$ , где  $p_i$  – частота  $i$  аллели, выявленной в данной выборке (Nei, 1973).

**Таблица 1. Идентификация S-аллелей при помощи консенсусных и аллель-специфичных праймеров**

**Table 1. Identification of S-alleles using consensus and allele-specific primers**

№	Аллель/ Allele	Размер (пн) ПЦР-фрагментов с праймерами PycomC1F/ PycomC5R / Size (bp) of PCR fragments with primers PycomC1F/ PycomC5R	Аллель-специфичные праймеры F/R / Allele- specific primers F/R	Размер (пн) ПЦР фрагментов с аллель- специфичными праймерами / Size (bp) of PCR fragments with allele- specific primers	Авторы аллель- специфичных праймеров / Authors of allele-specific primers
1	$S_{101}$	1300	MPyC1F/PycomS2R	1103	Sanzol et al., 2006
2	$S_{102}$	1700	MPyC1F/PycomS2R	1519	Sanzol et al., 2006
3	$S_{103}$	1600	B39S3F1/B40S3R1	430	Sanzol, 2009a
4	$S_{104-1}$	750	A96S4F/A95S4R	991 (нет рестрикции AvrII)	Sanzol, 2010
5	$S_{104-2}$	750	A96S4F/A95S4R	831+160 (рестрикция AvrII)	Sanzol, 2010
6	$S_{105}$	650	PycomC1F/PycomS5R	438	Sanzol, Robbins, 2008

<sup>1</sup> Приложение доступно в онлайн версии статьи/ The supplement is available in the online version of the paper: DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-02



Таблица 1. продолжение

№	Аллель/ Allele	Размер (пн) ПЦР- фрагментов с праймерами PycomC1F/ PycomC5R / Size (bp) of PCR fragments with primers PycomC1F/ ycomC5R	Аллель-специфичные праймеры F/R / Allele- specific primers F/R	Размер (пн) ПЦР фрагментов с аллель- специфичными праймерами / Size (bp) of PCR fragments with allele- specific primers	Авторы аллель- специфичных праймеров / Authors of allele-specific primers
7	$S_{106}$	675	PycomC1F/PycomS6R	462	Sanzol, Robbins, 2008
8	$S_{107}$	650	PycomS7F/PycomS7R	443	Sanzol, Robbins, 2008
9	$S_{108}$	675	PycomS8F/PycomS8R	613	Sanzol, Robbins, 2008
10	$S_{109}$	650	PycomC1F/PycomS9R	546	Sanzol, Robbins, 2008
11	$S_{110}$	2200	MPyC1F/PycomS10R	1985	Sanzol, Robbins, 2008
12	$S_{111}$	675	PycomC1F/PycomS11R	560	Sanzol, Robbins, 2008
13	$S_{112}$	1600	MPyC1F/PycomS12R	1177	Sanzol, Robbins, 2008
14	$S_{113}$	1950	MPyC1F/PycomS13R	–	Sanzol, Robbins, 2008
15	$S_{114}$	650	PycomC1F/PycomS14R	297	Sanzol, Robbins, 2008
16	$S_{115}$	650	A83SmF1/B37SmR2	380	Sanzol, 2009a
17	$S_{116}$	675	PcS16F/PcS16R	430	Gharehaghaji et al., 2014
18	$S_{117}$	1600	PpS9f/PpS9r	400	Gharehaghaji et al., 2014
19	$S_{118}$	1600	–	–	Sanzol, 2009a
20	$S_{119}$	650	–	–	Sanzol, 2009a
21	$S_{120}$	800	–	–	Sanzol, 2009a
22	$S_{121}$	650	C15ProF1/C18S21R	673	Sanzol, 2009b
23	$S_{121}^o$	–	C15ProF1/C18S21R	673	Sanzol, 2009b
24	$S_{122}$	675	A84S22F1/A89S22R1	418	Sanzol, 2009a
25	$S_{123}$	650	A88S23F1/B38S23R2	523	Sanzol, 2009a
26	$S_{124}$	650	A85S24F1/A86S24F2	489	Sanzol, 2009a
27	$S_{125}$	–	PycomC1F/PcS25R	–	Gharehaghaji et al., 2014
28	$S_{126}$	675	PcS26f/PcS26r	100	Bennici et al., 2020
29	$S_{127}$	850	PcS27f/PcS27r	277	Bennici et al., 2020

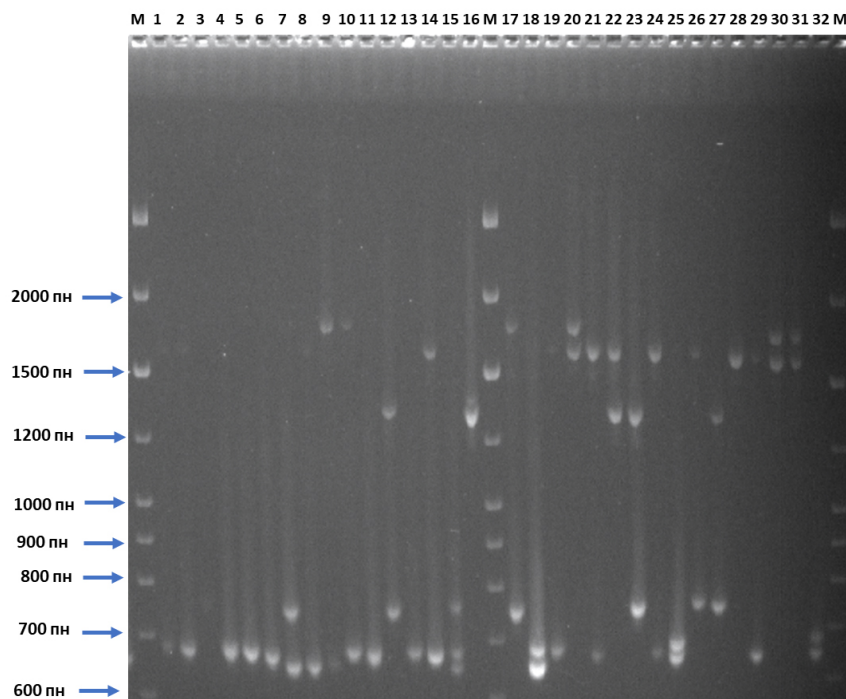
## Результаты и обсуждение

В работе была проведена оценка полиморфизма S-локуса у 194 образцов груши из коллекции МОС ВИР. Поскольку используемые нами праймеры были разработаны для *Pyrus communis*, то выборка для анализа включала образцы этого вида и родственного вида *P. caucasica*. Большую часть выборки (117 образцов или 60,3%) составляли сорта кавказской селекции, в том числе семь образцов *P. caucasica*, и один образец *P. communis*, собранные в ходе экспедиции по Северному Кавказу в 2022 году.

Молекулярный скрининг на первом этапе осуществляли с использованием консенсусных праймеров PycomC1/PycomC5 (Sanzol, Robbins, 2008), которые генерируют для разных аллелей фрагменты разных размеров. Дальнейшую идентификацию аллелей проводили при помощи аллель-специфичных праймеров (см. табл. 1). Результаты

изучения для каждого образца представлены в Приложении/ Supplement.

При анализе 194 образцов груши всего было выявлено 13 амплифицированных фрагментов с различной подвижностью (рис. 1). Однако из литературы известно, что консенсусные праймеры могут давать ампликоны одинаковой подвижности для разных S-аллелей. Например, ПЦР-продукту размером 675 пн в случае праймеров PycomC1/PycomC5 соответствуют аллели:  $S_{106}$ ,  $S_{108}$ ,  $S_{111}$ ,  $S_{116}$ ,  $S_{122}$ ,  $S_{126}$  (Sanzol, Robbins, 2008). Другой проблемой работы с консенсусными праймерами является их неспособность генерировать фрагменты для аллелей  $S_{121}^o$  и  $S_{125}$ . Поэтому идентификация аллелей была проведена комплексно с использованием обеих маркерных систем – консенсусной и аллель-специфичной (рис. 2). Такой подход позволил выявить в выборке 25 аллелей, а именно:  $S_{101}$ ,  $S_{102}$ ,  $S_{103}$ ,  $S_{104-1}$ ,  $S_{104-2}$ ,  $S_{105}$ ,  $S_{106}$ ,  $S_{107}$ ,  $S_{108}$ ,  $S_{109}$ ,  $S_{110}$ ,  $S_{111}$ ,  $S_{113}$ ,  $S_{114}$ ,  $S_{115}$ ,  $S_{116}$ ,  $S_{120}$ ,  $S_{121}$ ,  $S_{121}^o$ ,  $S_{122}$ ,  $S_{123}$ ,  $S_{124}$ ,  $S_{126}$ ,  $S_{127}$  (см. Приложение/ see the Supplement).



**Рис. 1. Полиморфные ПЦР-продукты, полученные с использованием консенсусных праймеров PycomC1/PycomC5**

- 1) 'Азад' (к-31305); 2) 'Горянка' (к-25842); 3) 'Августовская' (к-31760); 4) 'Кара Конжал' (к-2838); 5) 'Trompetenbirne' (к-3181); 6) 'Суринги' (к-3164); 7) 'Дуля Сладкая' (к-2790); 8) 'Busuioare' (к-13995); 9) 'Мальвина' (к-35495); 10) 'Машук' (к-17288); 11) 'Гизель' (к-20475); 12) Мер Джихар (к-24903); 13) 'Память Мичурина' (к-12113); 14) 'Деканка Красная' (к-35484); 15) Дзмернук (к-2771); 16) 'Гарджин Джахар' (к-24895); 17) 'Fondante de Noel' (к-3169); 18) Аббас Беги Поздняя (к-24888); 19) 'Тривинель' (к-24143); 20) 'Колобок' (к-31770); 21) 'Мехал Батона' (к-9544); 22) 'Комета' (к-32301); 23) 'Орбита' (к-27794); 24) 'Веснянка' (к-25840); 25) 'Ацыгалали' (к-24892); 26) 'Лимон Армуд' (к-9380); 27) 'Елена' (к-12114); 28) 'Saint Germain Blanc' (к-3126); 29) 'Noyabrskaya' (Moldavia) (к-31337); 30) Граф Мольтке (к-9343); 31) 'Арабеска' (к-32286); 32) 'Черинар' (к-24911); M – маркер молекулярного веса ДНК

**Fig. 1. Polymorphic PCR-products obtained using consensus primers PycomC1/PycomC5**

- 1) 'Azad' (k-31305); 2) 'Goryanka' (k-25842); 3) 'Vineuse d' Aout' (k-31760); 4) 'Kara Konzhal' (k-2838); 5) 'Trompetenbirne' (k-3181); 6) 'Suringi' (k-3164); 7) 'Dulya Sladkaya' (k-2790); 8) 'Busuioare' (k-13995); 9) 'Malvina' (k-35495); 10) 'Mashuk' (k-17288); 11) 'Gizel' (k-20475); 12) Mer Dzhikhar (k-24903); 13) 'Pamyat Michurina' (k-12113); 14) 'Dekanka Krasnaya' (k-35484); 15) Dzmernuk (k-2771); 16) 'Gardzhin Dzhakhar' (k-24895); 17) 'Fondante de Noel' (k-3169); 18) Abbas Begi Pozdnyaya (k-24888); 19) 'Trivinel' (k-24143); 20) 'Kolobok' (k-31770); 21) 'Mskhal Batona' (k-9544); 22) 'Kometa' (k-32301); 23) 'Orbita' (k-27794); 24) 'Vesnyanka' (k-25840); 25) 'Atsygalali' (k-24892); 26) 'Limon Armud' (k-9380); 27) 'Elena' (k-12114); 28) 'Saint Germain Blanc' (k-3126); 29) 'Noyabrskaya' (Moldavia) (k-31337); 30) Greve A.V. Moltke (k-9343); 31) 'Arabeska' (k-32286); 32) 'Cherinar' (k-24911); M –molecular weight DNA marker

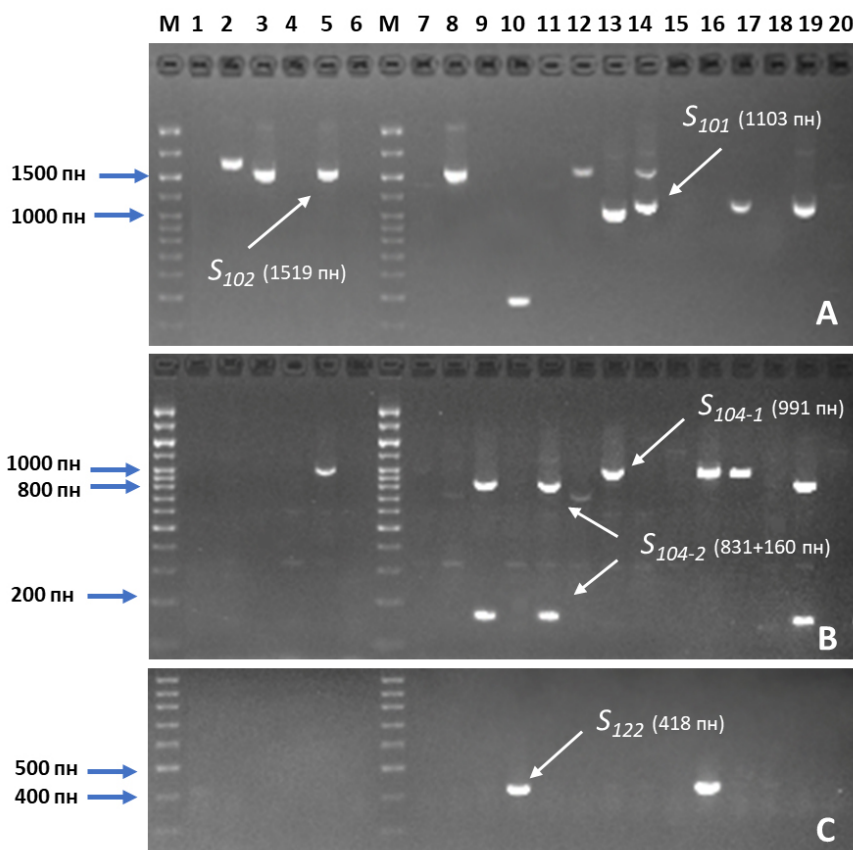
К сожалению, мы не смогли дифференцировать аллели у ряда образцов с ПЦР-продуктами PycomC1/C5 размерами 650 пн и 1600 пн. Фрагмент с размером 1600 пн может соответствовать аллелям  $S_{103}$ ,  $S_{112}$ ,  $S_{117}$ ,  $S_{118}$ , из которых получилось определить только одну аллель  $S_{103}$ . Для праймеров, специфичных для последовательностей аллелей  $S_{112}$  и  $S_{117}$ , мы не смогли подобрать условия ПЦР, а для определения аллели  $S_{118}$  специфичные праймеры не разработаны. Аналогично, ПЦР-продукт размером 650 пн соответствует нескольким аллельным вариантам (см. табл. 1), из которых нам не удалось идентифицировать аллель  $S_{119}$  из-за отсутствия аллель-специфичных праймеров.

Благодаря длительному электрофорезу в гелях нам удалось добиться хорошего разделения продуктов амплификации с использованием консенсусных праймеров и, при этом, выделить новые, не описанные в литературе, фрагменты, имеющие размеры ~1200 пн, ~1250 пн и ~1650 пн. Фрагмент размером ~1250 пн встречался у пяти образцов различного происхождения. Фрагменты размерами ~1200 пн и ~1650 пн оказались уникальны для сортов 'Pulteney' (США) и 'Дружба' (Майкоп) соответственно.

Также к потенциально новым *S*-аллелям можно отнести продукты амплификации с использованием консенсусных праймеров PycomC1/C5 размером 675 пн, кото-

рые не удалось дифференцировать с использованием всех аллель-специфичных праймеров, несмотря на то, что мы успешно применили праймеры для амплификации аллелей  $S_{106}$ ,  $S_{108}$ ,  $S_{111}$ ,  $S_{116}$ ,  $S_{122}$ ,  $S_{126}$ . Характерно, что подавляющее большинство сортов с такими потенциально новыми аллелями (5 из 6) имели кавказское происхождение.

Как и следовало ожидать, S-локус у изученных образцов выборки отличался очень высоким уровнем полиморфизма аллелей – значение индекса PIC для всей выборки составило 0,934, а в подвыборках местных кавказских и крымских сортов – 0,996 и 0,999 соответственно.



**Рис. 2. ПЦР со специфичными праймерами для идентификации аллелей  $S_{101}$  и  $S_{102}$  (A),  $S_{104-1}$  и  $S_{104-2}$  (B),  $S_{122}$  (C)**

1) Аббас Беги Поздняя (к-24888); 2) 'Нана Армуд' (к-3026); 3) 'Madame Verte' (к-2957); 4) 'Nouveau Poiteau' (к-3035); 5) 'Незабудка' (к-40336); 6) 'Noyabrskaya' (Moldavia) (к-31337); 7) 'Arbuzka' (к-2539); 8) 'Поддулька 325' (к-13071); 9) 'Паник' (к-12116); 10) 'Поддулька 504' (к-3070); 11) 'Romanische Smalzbirne' (к-3052); 12) 'Поддулька Сладкая' (к-3072); 13) 'Pulteney' (к-3059); 14) 'Progress' (к-31342); 15) 'Бурновка' (к-2685); 16) 'Ранняя Восковая' (к-9423); 17) 'Габар Закар' (к-2716); 18) 'Rannyaya Kaveka' (к-3092); 19) 'Pitmaston' (к-3067); 20) 'Cyprus' (к-2846); М – маркер молекулярного веса

**Fig. 2. PCR with specific primers for identifying alleles  $S_{101}$  and  $S_{102}$  (A),  $S_{104-1}$  and  $S_{104-2}$  (B),  $S_{122}$  (C)**

1) 'Abbas Begi Pozdnyaya' (k-24888); 2) 'Nana Armud' (k-3026); 3) 'Madame Verte' (k-2957); 4) 'Nouveau Poiteau' (k-3035); 5) 'Nezabudka' (k-40336); 6) 'Noyabrskaya' (Moldavia) (k-31337); 7) 'Arbuzka' (k-2539); 8) 'Poddulka 325' (k-13071); 9) 'Panik' (k-12116); 10) 'Poddulka 504' (k-3070); 11) 'Romanische Smalzbirne' (k-3052); 12) 'Poddulka Sladkaya' (k-3072); 13) 'Pulteney' (k-3059); 14) 'Progress' (k-31342); 15) 'Burnovka' (k-2685); 16) 'Rannyaya Voskovaya' (k-9423); 17) 'Gabar Zakar' (k-2716); 18) 'Rannyaya Kaveka' (k-3092); 19) 'Pitmaston' (k-3067); 20) 'Cyprus' (k-2846); M – molecular weight DNA marker

Только семь из выявленных 25 аллелей встречались в выборке с частотой более 10% (рис. 3). Наиболее распространенной из них оказалась аллель  $S_{101}$  (выявлена у 28,79% образцов), второй по частоте была аллель  $S_{103}$  (21,21%). Наши данные совпадали с описанными в лите-

ратуре – обе эти аллели были характерны для европейских сортов груши (Sanzol, 2009a; Bennici et al., 2020). Ещё одна аллель  $S_{102}$  у сортов экспериментальной выборки присутствовала в 15,2% случаев, однако она не была выявлена ни у местных кавказских, ни у крымских

сорт (рис. 4). При этом ее имели 22,5% (см. рис. 4) европейских сортов и 25,4% (16 из 63 изученных) сортов, созданных в селекционных учреждениях Кавказа (см. Приложение/ see the Supplement). Последние, таким образом, оказались ближе к европейским, чем к сортам народной селекции.

Мы сопоставили представленность наиболее распространенных ( $\geq 10\%$ ) аллелей в трех основных подгруппах сортов (европейские, местные кавказские и крымские сорта). Было показано, что местные кавказские сорта достоверно отличаются от европейских по частоте встречаемости трех из семи таких аллелей:  $S_{101}$  ( $P=0,002$ ),  $S_{104-1}$  ( $P=0,01$ ) и  $S_{122}$  ( $P=0,002$ ), кроме того, у них полностью отсутствует аллель  $S_{102}$ . Значительный контраст наблюдали и при сопоставлении подвыборок европейских и крымских сортов – частоты встречаемости аллели  $S_{120}$  достоверно различались ( $P=0,005$ ), и полностью отсут-

ствовали распространенные в выборке аллели  $S_{102}$  и  $S_{103}$  (см. рис. 4). Образцы, собранные в рамках экспедиции ВИР по Северному Кавказу в 2022 году, также демонстрировали полное отсутствие аллелей  $S_{102}$  и  $S_{103}$ , то есть оказались близки к кавказским сортам народной селекции (см. Приложение/ see the Supplement).

Почти половина выявленных аллелей (14) относилась к редким, присутствующим менее чем у 5% образцов, а аллели РусомС1/С5-1650 и РусомС1/С5-1200 оказались уникальными. По частоте встречаемости редких аллелей три сопоставляемые подгруппы также отличались друг от друга (табл. 2). Например, кавказские сорта народной селекции не имели аллелей  $S_{110}$  и  $S_{116}$ , и наоборот, только в этой подгруппе присутствовали связанная с самофертильностью аллель  $S_{121}$  и аллель  $S_{109}$  (см. табл. 2). Эти же особенности (за исключением наличия аллели  $S_{121}$ ) имели и образцы, собранные в черкесских лесосадах.

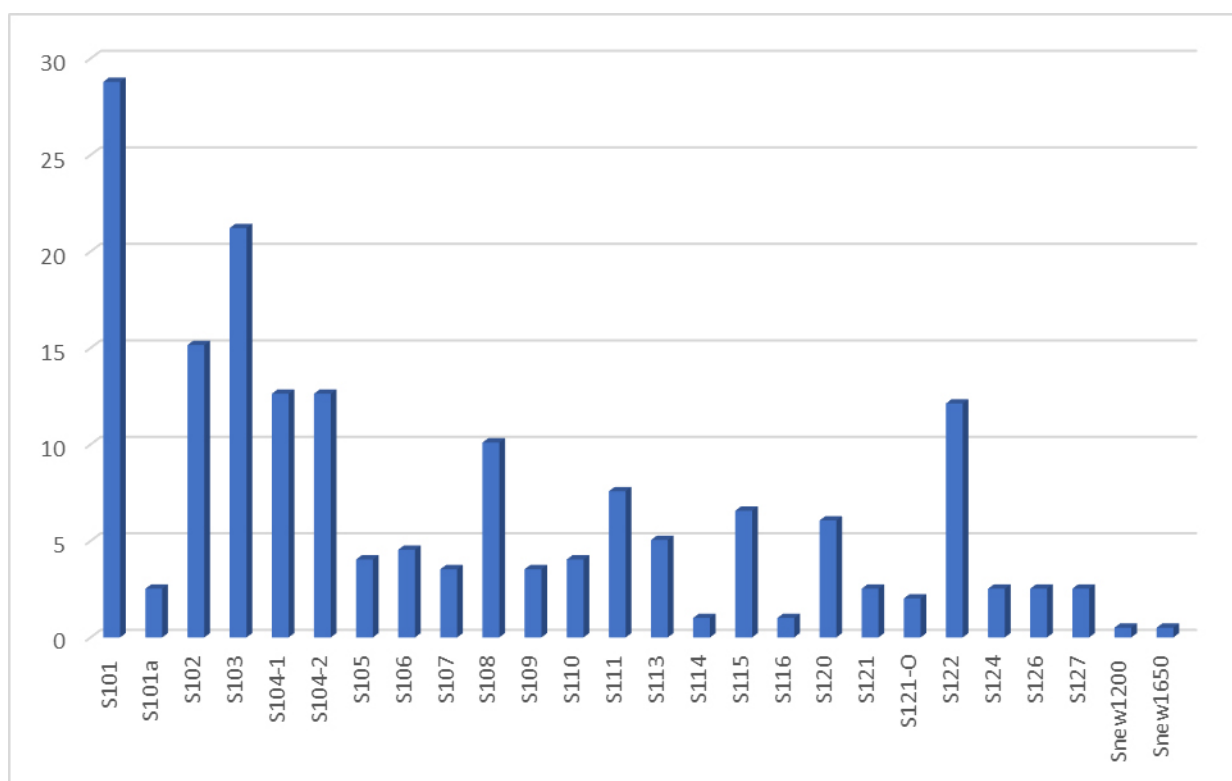
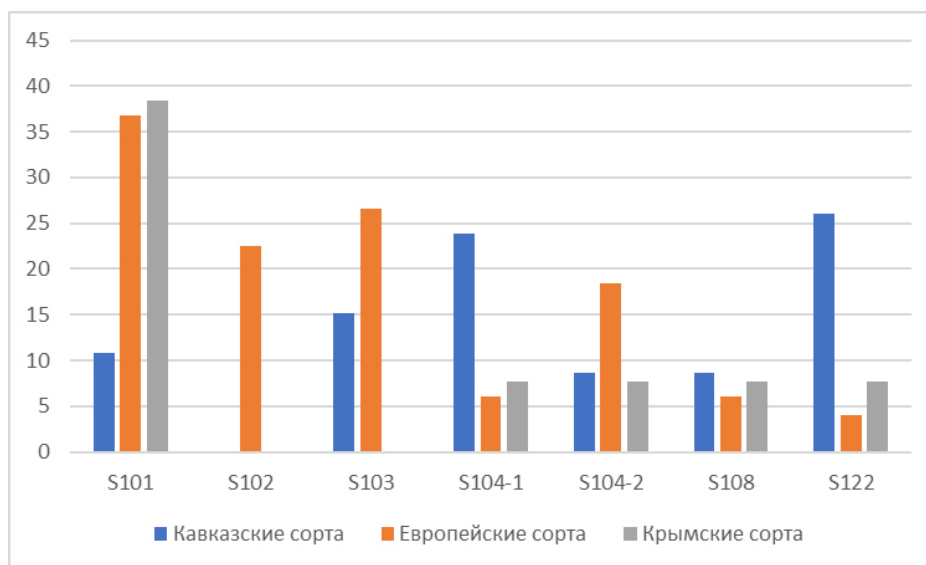


Рис. 3. Частота встречаемости аллелей в изученной выборке.

Fig. 3. Frequency of alleles in the studied subset.

Система GSI, контролируемая S-локусом, должна препятствовать опылению растения собственной пыльцой и, соответственно, поддерживать гетерозиготный статус организма. Поэтому ожидаемым результатом было наличие у генотипов выборки двух разных аллелей S-локуса (состояние дуплекса). Действительно, подавляющее большинство изученных генотипов имели этот статус. Однако нами были выявлены 12 сортов в состоянии

симплекса, то есть генерирующие в реакции с консенсусными праймерами только один ПЦР-продукт (см. Приложение/ see the Supplement). Возможным объяснением может служить гомозиготность этих сортов. Однако гомозиготные генотипы могут образоваться только при опылении собственной пыльцой, то есть при наличии у них мутаций самофертильности. При этом ни у одного такого образца не было выявлено аллели  $S_{121}$ , которая отли-



**Рис. 4. Частота встречаемости семи аллелей, наиболее распространенных в выборке у европейских, местных кавказских и крымских сортов**

**Fig. 4. Frequency of occurrence of the seven most common alleles in the subset in European, Caucasian and Crimean cultivars**

чается вставкой транспозона в области интрона и может приводить к самофертильности – у симплексов присутствовали аллели  $S_{101}$ ,  $S_{101a}$ ,  $S_{104-2}$ ,  $S_{113}$  и  $S_{120}$ . Нельзя исключить, что в последовательностях этих аллелей произошли мутации, приводящие к самоплодности, которые мы не смогли идентифицировать при помощи использованных праймеров. Например, у черешни известна делеция в гене *SFB* размером 4 пн, произошедшая путем искусственного мутагенеза у линии John Innes 2420 с исходной аллелью  $S4$ . Мутантная аллель обозначается как  $S4'$ , она может быть идентифицирована путем электрофореза в ПААГ или же при использовании dCAPS-маркеров (от англ. derived Cleaved Amplified Polymorphic Sequences), а при анализе с консенсусными праймерами неотличима от интактной аллели  $S4$  (Ikeda et al., 2004). Однако более логичным объяснением является наличие у геноти-

пов-симплексов неизвестных аллелей, которые не амплифицируются в реакции с консенсусными праймерами (аналогично аллелям  $S_{125}$  и  $S_{121}$ ).

Еще 13 образцов выборки по результатам *S*-генотипирования демонстрировали триплоидную природу (см. Приложение/ see the Supplement). Большинство из них (11) относились к местным кавказским образцам, включая два экспедиционных, и к крымским сортам. Действительно, в описании приемов, свойственных народной селекции, приводится отбор наиболее гетерозисных форм и поддержание их путем прививок в кроны дикорастущих деревьев (Tuz, 1983). Такие гетерозисные формы вполне могли быть полиплоидными, в том числе межвидовыми гибридами, образовавшимися в местах совместного произрастания разных видов груши.

Группа/ Group	Доля (%) сортов с аллелью/ Percentage of cultivars with the allele												
	$S_{101a}$	$S_{105}$	$S_{106}$	$S_{107}$	$S_{109}$	$S_{110}$	$S_{114}$	$S_{116}$	$S_{121}$	$S_{121}^o$	$S_{124}$	$S_{126}$	$S_{127}$
Европейские сорта/ European cultivars (N=49)	6,1	8,2	4,1	6,1	0	6,1	2,0	2,0	0	0	0	2,04	0
Местные кавказские сорта/ Local Caucasian cultivars (N=46)	2,2	2,2	6,5	8,7	2,1	0	2,2	0	4,4	4,4	6,5	4,4	2,4
Крымские сорта/ Crimean cultivars (N=13)	0	0	7,7	0	0	0	0	0	7,7	0	0	15,4	15,4

**Таблица 2. Частота встречаемости редких *S*-аллелей – частота встречаемости  $\leq 5\%$  – в трех основных подгруппах изученных сортов**

**Table 2. Frequency of occurrence of rare *S*-alleles – frequency of occurrence at  $\leq 5\%$  – in the three main subgroups of the studied cultivars**



## Заключение

Таким образом, у обширной выборки образцов груши из коллекции МОС ВИР (186) и дополнительно у восьми экспедиционных образцов был определен аллельный состав гена *S-RNase* в S-локусе, контролирующем самонесовместимость. Анализ проводили комплексно, с использованием как консенсусных, так и аллель-специфичных праймеров. На основании различий по частоте встречаемости аллелей, обнаружения новых, ранее не описанных в литературе ПЦР-продуктов, выявления уникальных аллелей и большого количества триплоидных форм можно сделать вывод о своеобразии сортов народной селекции Кавказа и Крыма по сравнению с сортами европейской селекции. Староместные сорта, поддерживаемые в коллекции груши на МОС ВИР, могут служить уникальным материалом для селекции и для изучения истории доместикации груши.

## References/Литература

- Aguiar B., Vieira J., Cunha A.E., Fonseca N.A., Reboiro-Jato D., Reboiro-Jato M., Fdez-Riverola F., Raspé O., Vieira C.P. Patterns of evolution at the gametophytic self-incompatibility *Sorbus aucuparia* (Pyrinae) S pollen genes support the non-self recognition by multiple factors model. *Journal of Experimental Botany*. 2013;64(8):2423-2434. DOI: 10.1093/jxb/ert098
- Antonova O.Yu., Klimenko N.S., Rybakov D.A., Fomina N.A., Zheltova V.V., Novikova L.Yu., Gavrilenko T.A. SSR analysis of modern Russian potato varieties using DNA samples of nomenclatural standards. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2020;3(4):77-96. [in Russian] (Антонова О.Ю., Клименко Н.С., Рыбаков Д.А., Фомина Н.А., Желтова В.В., Новикова Л.Ю., Гавриленко Т.А. SSR-анализ современных российских сортов картофеля с использованием ДНК номенклатурных стандартов. *Биотехнология и селекция растений*. 2020;3(4):77-96). DOI: 10.30901/2658-6266-2020-4-o2
- Bell R.L. Pears (*Pyrus*). *Acta Horticulturae*. 1991;290:657-697. DOI: 10.17660/ActaHortic.1991.290.15
- Bennici S., Di Guardo M., Distefano G., Las Casas G., Ferlito F., De Franceschi P., Dondini L., Gentile A., La Malfa S. Deciphering S-RNase Allele Patterns in Cultivated and Wild Accessions of Italian Pear Germplasm. *Forests*. 2020;11(11):1228. DOI: 10.3390/f11111228
- Claessen H., Keulemans W., Van de Poel B., De Storme N. Finding a compatible partner: self-incompatibility in European pear (*Pyrus communis*); molecular control, genetic determination, and impact on fertilization and fruit set. *Frontiers in Plant Science*. 2019;10:407. DOI: 10.3389/fpls.2019.00407
- De Franceschi P., Pierantoni L., Dondini L., Grandi M., Sanzoli J., Sansavini S. Cloning and mapping multiple S-locus F-box genes in European pear (*Pyrus communis* L.). *Tree Genetics and Genomes*. 2011a;7(2):231-240. DOI: 10.1007/s11295-010-0327-5
- De Franceschi P., Pierantoni L., Dondini L., Grandi M., Sansavini S., Sanzoli J. Evaluation of candidate F-box genes for the pollen S of gametophytic self-incompatibility in the *Pyrinae* (Rosaceae) on the basis of their phylogenomic context. *Tree Genetics and Genomes*. 2011b;7(4):663-683. DOI: 10.1007/s11295-011-0365-7
- FAOSTAT. The Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations. FAO statistics. Available from: <https://www.fao.org/faostat/en/#compare>; <https://www.fao.org/faostat/ru/#compare> [accessed June 10, 2025].
- Fisher R.A. On the interpretation of  $\chi^2$  from contingency tables, and the calculation of P. *Journal of the Royal Statistical Society*. 1922;85(1):87-94. Available from: <http://hdl.handle.net/2440/15173> [accessed June 10, 2025].
- Gharehaghaji A.N., Arzani K., Abdollahi H., Shojaeiyan A., Dondini L., De Franceschi P. Genomic characterization of self-incompatibility ribonucleases in the Central Asian pear germplasm and introgression of new alleles from other species of the genus *Pyrus*. *Tree Genetics and Genomes*. 2014;10:411-428. DOI: 10.1007/s11295-013-0696-7
- Goldway M., Takasaki-Yasuda T., Sanzoli J., Mota M., Zisovich A., Stern R.A., Sansavini S. Renumbering the S-RNase alleles of European pears (*Pyrus communis* L.) and cloning the S109 RNase allele. *Scientia Horticulturae*. 2009;119(4):417-422. DOI: 10.1016/j.scienta.2008.08.027
- Ikeda K., Watari A., Ushijima K., Yamane H., Hauck N.R., Lezzoni A.F., Tao R. Molecular markers for the self-compatible S4'-haplotype, a pollen-part mutant in sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 2004;129(5):724-728. DOI: 10.21273/JASHS.129.5.724
- Inglis P.W., Pappas M.D.C.R., Resende L.V., Grattapaglia D. Fast and inexpensive protocols for consistent extraction of high quality DNA and RNA from challenging plant and fungal samples for high-throughput SNP genotyping and sequencing applications. *PLoS One*. 2018;13(10):e0206085. DOI: 10.1371/journal.pone.0206085
- Jaumien F. The causes of poor bearing of pear trees of the variety 'Doyenne du Comice'. *Acta Agrobotanica*. 1968;21:75-106. DOI: 10.5586/aa.1968.003
- Kubo K., Entani T., Takara A., Wang N., Fields A.M., Hua Z., Toyoda M., Kawashima S., Ando T., Isogai A., Kao T.H., Takayama S. Collaborative non-self recognition system in S-RNase-based self-incompatibility. *Science*. 2010;330:796-799. DOI: 10.1126/science.1195243
- Lewis D., Modlibowska I. Genetical studies in pears. *Journal of Genetics*. 1942;43:211-222. DOI: 10.1007/BF02982754
- Marchese A., Tobutt K.R., Raimondo A., Motisi A., Bošković R.I., Clarke J., Caruso T. Morphological characteristics, microsatellite fingerprinting and determination of incompatibility genotypes of Sicilian sweet cherry cultivars. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 2007;82:41-48. DOI: 10.1080/14620316.2007.11512197
- Minamikawa M., Kakui H., Wang S., Kotoda N., Kikuchi S., Koba T., Sassa H. Apple S locus region represents a large cluster of related, polymorphic and pollen-specific F-box genes. *Plant Molecular Biology*. 2010;74:143-154. DOI: 10.1007/s11103-010-9662-z
- Moriya Y., Yamamoto K., Okada K., Iwanami H., Bessho H., Nakanishi T., Takasaki T. Development of a CAPS marker system for genotyping European pear cultivars harboring 17 S alleles. *Plant Cell Reports*. 2007;26:345-354. DOI: 10.1007/s00299-006-0254-y
- Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1973;70(12):3321-3323. DOI: 10.1073/pnas.70.12.3321
- Okada K., Tonaka N., Taguchi T., Ichikawa T., Sawamura Y., Nakanishi T., Takasaki-Yasuda T. Related polymorphic F-box protein genes between haplotypes clustering in the BAC contig sequences around the S-RNase of Japanese pear. *Journal of Experimental Botany*. 2011;62(6):1887-1902. DOI: 10.1093/jxb/erq381
- Rubtsov G.A. Origin and evolution of cultivated pear (*Proiskhozhdeniye i evolyutsiya kul'turnoy grushi*). *Proceedings of the USSR Academy of Sciences*. 1940;28(4):351-354. [in Russian] (Рубцов Г.А. Происхождение и эволюция культурной груши. *Доклады Академии наук СССР*. 1940;28(4):351-354).
- Sanzoli J. Genomic characterization of self-incompatibility ribonucleases (S-RNases) in European pear cultivars and development of PCR detection for 20 alleles. *Tree Genetics and Genomes*. 2009a;5:393405. DOI: 10.1007/s11295-008-0194-5
- Sanzoli J. Pistil-function breakdown in a new S-allele of European pear, S21 confers self-compatibility. *Plant Cell Reports*. 2009b;28(3):457-467. DOI: 10.1007/s00299-008-0645-3
- Sanzoli J. Two neutral variants segregating at the gametophytic self-incompatibility locus of European pear (*Pyrus communis* L.) (Rosaceae, Pyrinae). *Plant Biology*. 2010;12(5):800-805. DOI: 10.1111/j.1438-8677.2009.00277.x
- Sanzoli J., Herrero M.B. Identification of self-incompatibility alleles in pear cultivars (*Pyrus communis* L.). *Euphytica*. 2002;128:325-331. DOI: 10.1023/A:1021213905461

- Sanzol J., Robbins T.P. Combined analysis of S-Alleles in European pear by pollinations and PCR-based S-genotyping; correlation between S-phenotypes and S-RNase genotypes. Journal of American Society for Horticultural Science. 2008;133(2):213-224. DOI: 10.21273/JASHS.133.2.213
- Sanzol J., Sutherland B.G., Robbins T.P. Identification and characterization of genomic DNA sequences of the S-ribonuclease gene associated with self-incompatibility alleles S1 to S5 in European pear. Plant Breeding. 2006;125(5):513-518. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2006.01269.x
- Sassa H., Kakui H., Miyamoto M., Suzuki Y., Hanada T., Ushijima K., Kusaba M., Hirano H., Koba T. S Locus F-Box Brothers: multiple and pollen-specific F-Box genes with S haplotype-specific polymorphisms in apple and Japanese pear. Genetics. 2007;175:1869-1881. DOI: 10.1534/genetics.106.068858
- Suprun I.I., Tokmakov S.V., Makarkina M.V. Analysis of allelic polymorphism of self-incompatibility in some Russian varieties of pears (*Pyrus communis* L.) using consensus and S5, S8, allele-specific DNA markers. Polythematic Online Electronic Scientific Journal of Kuban State Agrarian University. 2014;103(09): 607-618. [in Russian] (Супрун И.И., Токмаков С.В., Макаркина М.В. Анализ аллельного полиморфизма гена самонесовместимости у некоторых отечественных сортов груши (*Pyrus communis* L.) с использованием консенсусных и S5, S8, аллель-специфичных ДНК маркеров. Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2014;103(09): 607-618).
- Takasaki T., Moriya Y., Okada K., Yamamoto K., Iwanami H., Bessho H., Nakanishi T. cDNA cloning of nine S alleles and establishment of a PCR-RFLP system for genotyping European pear cultivars. Theoretical and Applied Genetics. 2006;112:1543-1552. DOI: 10.1007/s00122-006-0257-7
- Tuz A.S. *Pyrus* L. – Pear (*Pyrus* L. – Grusha). In: Likhonos F.D., Tuz A.S., Lobachev A.J. The USSR flora of cultivated plants. Vol. 14. Pome fruits (Kulturnaya flora SSSR. T. 14. Semechkovye). Moscow; 1983. p.126-225. [in Russian] (Туз А.С. *Pyrus* L. – Груша. В кн.: Лихоноса Ф.Д., Туза А.С., Лобачева А.Я. Культурная флора СССР. Т. 14. Семечковые. Москва; 1983. С.126-225).
- Vavilov N.I. Wild progenitors of the fruit trees of Turkestan and the Caucasus and the problem of the origin of fruit trees. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 1931;26(3):85-107. [in Russian] (Вавилов Н.И. Дикие родичи плодовых деревьев Азиатской части СССР и Кавказа и проблема происхождения плодовых деревьев. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 1931;26(3):85-107).
- Wu J., Li M., Li T. Genetic features of the spontaneous self-compatible mutant, 'Jin Zhui' (*Pyrus bretschneideri* Rehd.). PloS One. 2013;8(10):e76509. DOI: 10.1371/journal.pone.0076509
- Wu J., Wang Y., Xu J., Korban S.S., Fei Z., Tao S., Ming R., Tai S., Khan A.M., Chao Gu C., Yin H., Zheng D., Qi K., Li Y., Wang R., Deng C.H., Kumar S., Chagné D., Li X., Wu J., Huang X., Zhang H., Xie Z., Li X., Zhang M., Li Y., Yue Z., Fang X., Li J., Li L., Jin C., Qin M., Zhang J., Wu X., Ke Y., Wang J., Yang H., Zhang S. Diversification and independent domestication of Asian and European pears. Genome Biology. 2018;19:1-16. DOI: 10.1186/s13059-018-1452-y
- Zisovich A.H., Stern R., Sapir G., Shafir S., Goldway M. The RHV region of S-RNase in the European pear (*Pyrus communis*) is not required for the determination of specific pollen rejection. Sexual Plant Reproduction. 2004;17:151-156. DOI: 10.1007/s00497-004-0225-9
- Zuccherelli S., Tassinari P., Broothaerts W., Tartarini S., Dondini L., Sansavini S. S-Allele characterization in self-incompatible pear (*Pyrus communis* L.). Sexual Plant Reproduction. 2002;15:153-158. DOI: 10.1007/s00497-002-0145-5

### Информация об авторах

**Анастасия Олеговна Гончаренко**, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярной селекции и ДНК-паспортизации, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, aogoncharenko97@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0007-2474-752X>

**Лариса Владимировна Багмет**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, отдел агроботаники и *in situ* сохранения генетических ресурсов растений, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, l.bagmet@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0768-0056>

**Марина Николаевна Петрова**, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий специалист, отдел генетических ресурсов плодовых культур, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, adresspb-petrova@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5700-0384>

**Ольга Юрьевна Антонова**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, и.о. заведующего, лаборатория молекулярной селекции и ДНК-паспортизации, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, olgaant326@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8334-8069>

### Information about the authors

**Anastasiia O. Goncharenko**, Junior Researcher, Laboratory of Molecular Breeding and DNA Passportization, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, aogoncharenko97@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0007-2474-752X>

**Larisa V. Bagmet**, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Department of Agrobotany and *in situ* Conservation of Plant Genetic Resources, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, l.bagmet@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0768-0056>

**Marina N. Petrova**, Cand. Sci. (Agriculture), Leading specialist, Department of Fruit Crop Genetic Resources, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, adresspb-petrova@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5700-0384>

**Olga Yu. Antonova**, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Acting Head, Laboratory of Molecular Breeding and DNA Passportization, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42,44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, olgaant326@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8334-8069>

**Вклад авторов:** все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

---

**Contribution of the authors:** the authors contributed equally to this article.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interests:** the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 12.07.2025; одобрена после рецензирования 26.08.2025; принята к публикации 16.09.2025.

The article was submitted on 12.07.2025; approved after reviewing on 26.08.2025; accepted for publication on 16.09.2025.

Научная статья

УДК 634.22:575.133:575.174

DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-03



## CAPS-маркеры для анализа полиморфизма пластидной ДНК у представителей подрода *Prunophora* (Neck. ex Spach) Focke рода *Prunus* L.

А.К. Макаов, О.Е. Радченко, К.Р. Криворучко, О.Ю. Антонова

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

**Автор, ответственный за переписку:** Адам Капланович Макаов, a.makaov@vir.nw.ru

**Актуальность.** Слива домашняя *Prunus domestica* L., алыча *Prunus cerasifera* Ehrh. и терн *Prunus spinosa* L. относятся к секции *Prunus* подрода *Prunophora* (Neck. ex Spach) Focke рода *Prunus* L. Считается, что вид *P. domestica* произошел за счет гибридизации алычи и терна, однако из-за фенотипической разнородности сливы домашней, наличия широкого спектра вариаций и переходных форм, а также сложного гексаплоидного генома вопрос его происхождения до сих пор остается предметом споров. Для углубленного изучения филогенетических взаимоотношений в настоящее время широко применяют анализ полиморфизма пластидного генома с использованием технологий молекулярного маркирования и ДНК-штрихкодирования. В данном исследовании мы поставили себе целью разработать набор CAPS-маркеров для быстрого анализа полиморфизма последовательностей пластидной ДНК у представителей секции *Prunus*. **Материалы и методы:** На основе анализа последовательности хлДНК *Prunus cerasifera* var. *pissardii* (Carrière) L.H. Bailey была разработана 21 пара пластидоспецифичных праймеров. Также были задействованы праймеры, использовавшиеся ранее для анализа хлДНК у других видов семейства Розовые, а именно у представителей рода *Rubus* L. Для апробации праймеров и подбора рестриктаз использовали выборку, состоящую из семи образцов *P. cerasifera*, четырех сортов *P. domestica*, четырех образцов терна *P. spinosa* и одного сорта гибридного вида *Prunus × rossica* Eremín. **Результаты:** Нами разработано 10 потенциальных CAPS-маркеров (комбинаций праймер/рестриктаза), дающих наиболее наглядную картину полиморфизма сайтов пластидной ДНК у образцов сливы домашней, алычи и терна. Для подтверждения диагностической ценности отобранных CAPS-маркеров проведен анализ экспериментальной выборки образцов косточковых культур из коллекции ВИР, в которую входили 19 сортов *P. domestica*, 16 образцов *P. spinosa*, семь сортов *P. cerasifera* и один гибрид с участием сливы китайской *Prunus salicina* Lindl. У использованных в работе CAPS-маркеров выявлен разный уровень детектируемого полиморфизма, большая часть маркеров давала от трех до пяти вариантов рестрикционных профилей, наиболее полиморфным оказался район *petN/psbM* (маркер RubPlast9/TaqI) – девять спектров рестрикционных фрагментов. Сочетания различных рестрикционных профилей одного образца расценивали как гаплотип его хлДНК, всего в относительно небольшой выборке в 43 образца было выявлено 20 гаплотипов. **Заключение.** Таким образом, разработанные нами CAPS-маркеры позволяют эффективно анализировать полиморфизм пластовов косточковых культур. В дальнейшем эти маркеры будут использованы для изучения расширенных выборок образцов сливы домашней, алычи и терна и исследования взаимосвязей между данными видами.

**Ключевые слова:** *Prunus* sp., слива домашняя, терн, алыча, пластидная ДНК, CAPS-маркеры, гаплотипы

**Благодарности:** Работа выполнена в рамках Государственного задания согласно тематическому плану ВИР по теме № 1021032424343-9-4.4.4 FGEM-2022-0008

**Для цитирования:** Макаов А.К., Радченко О.Е., Криворучко К.Р., Антонова О.Ю. CAPS-маркеры для анализа полиморфизма пластидной ДНК у представителей подрода *Prunophora* (Neck. ex Spach) Focke рода *Prunus* L. *Биотехнология и селекция растений*. 2025;8(3):32-42. DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-03

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

© Макаов А.К., Радченко О.Е., Криворучко К.Р., Антонова О.Ю., 2025

## Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-o3

# CAPS markers for the analysis of plastid DNA polymorphism in representatives of the subgenus *Prunophora* (Neck. ex Spach) Focke of the genus *Prunus* L.

Adam K. Makaov, Olga E. Radchenko, Ksenija R. Krivoruchko, Olga Yu. Antonova

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

**Corresponding author:** Adam K. Makaov, a.makaov@vir.nw.ru

**Relevance.** Common plum *Prunus domestica* L., cherry plum *Prunus cerasifera* Ehrh. and blackthorn *Prunus spinosa* L. belong to the section *Prunus* of the subgenus *Prunophora* (Neck. ex Spach) Focke of the genus *Prunus* L. It is believed that the species *P. domestica* originated from hybridization of cherry plum and blackthorn, however, due to the phenotypic heterogeneity of the European plum, the presence of a wide range of variations and transitional forms, as well as a complex hexaploid genome, the question of its origin is still a matter of debate. For in-depth study of phylogenetic relationships, the analysis of polymorphism of plastid genome sites using molecular marking and DNA barcoding technologies is currently widely used. In this study, we aimed to develop a set of CAPS markers for rapid analysis of plastid DNA polymorphism in representatives of the *Prunus* section. **Materials and methods.** Based on the analysis of the cpDNA sequence of *Prunus cerasifera* var. *pissardii* (Carrière) L.H. Bailey, 21 pairs of plastid-specific primers have been developed. The primers previously applied to cpDNA analysis in other species of the Rosaceae family, namely in representatives of the genus *Rubus* L., were also used. To test the primers and select restriction enzymes, a subset consisting of seven accessions of *P. cerasifera*, four cultivars of *P. domestica*, four accessions of blackthorn *P. spinosa* and one cultivar of the hybrid species *Prunus* × *rossica* Eremin was used. **Results.** We have developed 10 potential CAPS markers (primer/restriction enzyme combinations) that provide the most visual picture of plastid DNA polymorphism in accessions of European plum, cherry plum and blackthorn. To confirm the diagnostic value of the selected CAPS markers, an analysis was performed on an experimental subset of stone fruit crops from the VIR collection, which included 19 cultivars of *P. domestica*, 16 accessions of *P. spinosa*, seven cultivars of *P. cerasifera* and one hybrid involving Chinese plum *Prunus salicina* Lindl. The CAPS markers used in the work showed different levels of detectable polymorphism, most of the markers identified from three to five variants of restriction profiles, the most polymorphic was the *petN/psbM* region (RubPlast9/TaqI marker) with nine different spectra of restriction fragments. Combinations of different restriction profiles for each accession were assessed as a haplotype of cpDNA; in total, 20 haplotypes were identified in a relatively small subset of 43 accessions. **Conclusion.** The developed CAPS markers allow us to effectively analyze the polymorphism of stone fruit plastomes in the future. They will be used to study broader experimental sets of accessions of European plum, cherry plum, and blackthorn and to investigate the relationships between these species.

**Keywords:** *Prunus* sp., common plum, blackthorn, cherry plum, plastid DNA, CAPS markers, haplotypes**Acknowledgements:** The research was carried out according to the State Assignment to VIR, Topic No. 1021032424343-9-4.4.4 FGEM-2022-0008**For citation:** Makaov A.K., Radchenko O.E., Krivoruchko K.R., Antonova O.Yu. CAPS markers for the analysis of plastid DNA polymorphism in representatives of the subgenus *Prunophora* (Neck. ex Spach) Focke of the genus *Prunus* L. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2025;8(3):32-42. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-o3

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

© Makaov A.K., Radchenko O.E., Krivoruchko K.R., Antonova O.Yu., 2025



## Введение

Род *Prunus* L. относится к семейству Rosaceae Juss., подсемейству Amygdaloideae Arn. (= Prunoideae Focke) и трибе Amygdaleae Batsch (Potter et al., 2007; Eremin, 2008). Внутри рода по международной принятой систематике выделяют пять основных подродов: *Prunophora* (Neck. ex Spach) Focke (или *Prunus* s.s.), *Amygdalus* (L.) Focke, *Cerasus* (Mill.) A. Gray, *Padus* (Moench) Focke и *Laurocerasus* (Torrey) Schneid. (Rehder, 1940; Eremin, 2008); в традиционной для нашей страны систематике принято выделять отдельные роды (в том числе род *Prunus* Mill.) в составе подсемейства Prunoideae (Komarov, 1971; Vitkovskii, 2003; Eremin, 2008).

Слива домашняя (*Prunus domestica* L.) представляет собой гексаплоидный вид ( $2n=6x=48$ ), который, наряду с диплоидной алычой *Prunus cerasifera* Ehrh. ( $2n=2x=16$ ) и тетраплоидным терном *Prunus spinosa* L. ( $2n=4x=32$ ) относится, согласно современным представлениям, к секции *Prunus* подрода *Prunophora* рода *Prunus*. (Eremin, 2008). Слива играет важную роль в мировой плодово-овощной индустрии, среди плодовых косточковых культур по ежегодному объему производства она занимает второе место в мире, уступая только персику и нектарину (Vitkovskii, 2003; FAO, 2025). По данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации объединенных наций, валовый сбор слив в России за 2023 год составил 189,2 тысяч тонн (FAO, 2025).

Систематика вида *Prunus domestica* достаточно сложна, в нем выделяют несколько подвидов и ряд помологических групп (сортоформ). Так, П.М. Жуковский (Zhukovsky, 1971) и Г.В. Еремин (Eremin, 2008) называют четыре подвида: subsp. *domestica* Mausfeld (= слива европейская), subsp. *insititia* (Jusl.) Schneid (= тернослива), subsp. *italica* (Borkh.) Gams (= ренклюд) и subsp. *syriaca* (Borkh.) Janchen (= мирабель). В составе этих подвидов выделяют ряд сортоформ, например ренклоды, венгерки, пердригоны, яичные желтые сливы, императорские сливы, сливы типа Ломбард (Vitkovskii, 2003). Однако провести четкие границы между группами сложно из-за присутствия сливе большой фенотипической изменчивости и наличия переходных форм (Hedrick, 1911; Watkins, 1976).

Происхождение сливы домашней до сих пор является предметом споров. Целый ряд авторов поддерживает гипотезу происхождения сливы посредством гибридизации между тетраплоидным терном *P. spinosa* (геном SSSS) и диплоидной алычой *P. cerasifera* (геном CC) (Crane, Lawrence, 1952; Murawski, 1970; Mowrey, Werner, 1990; Bortiri et al., 2001). Эта гипотеза опирается на результаты экспериментов по прямой межвидовой гибридизации между *P. cerasifera* и *P. spinosa*, в которых было показано появление, наряду с бесплодными формами, небольшого количества фертильных гибридов, морфологически сходных с *P. domestica* (Rybin, 1936; Murawski, 1970). В соответствии с этой гипотезой геномный состав сливы обозначают как CCSSSS (Crane, Lawrence, 1934;

Murawski, 1970).

Другой распространенной гипотезой является предположение о наличии среди предков сливы домашней различных косточковых культур. По мнению Г.В. Еремина (Eryomine, 1990), формирование сливы домашней включает две стадии: на первой образовался сескви-плоид терна, а на второй происходило его скрещивание с алычой. При этом сам вид *P. spinosa*, вероятно, является межвидовым гибридом *P. cerasifera* с другим видом подрода *Prunophora*. Так, Reynders-Aloisi и Grellet (Reynders-Aloisi, Grellet, 1994) при RFLP-анализе рибосомной ДНК (рДНК) показали, что у терна существует три варианта рибосомных последовательностей, причем два из них аналогичны имеющимся у алычи, а третий оригинален и, по всей видимости, происходит от неизвестного вида. По мнению Г.В. Еремина (Eryomine, 1990), терн является результатом скрещивания алычи с вишней мелкоплодной *Prunus microcarpa* С.А. Меу., и, соответственно, геномная формула сливы домашней может быть представлена в виде CsCsCdCdMsMs, где Cs и Cd – геномы алычи, а Ms – геном вишни мелкоплодной. Существуют, однако, молекулярные данные, не согласующиеся с этой гипотезой: тот же самый RFLP-анализ рДНК у образца *P. microcarpa* P3187 показал отличие его ДНК от последовательностей терна (Reynders-Aloisi, Grellet, 1994), а при проведении SSR-анализа в работе M.N. Nas с соавторами (Nas et al., 2011) было продемонстрировано, что образцы вишни мелкоплодной образовывали кластер отдельно от образцов сливы домашней. Терн авторы не изучали.

Кроме того, были выдвинуты еще две гипотезы: вид *P. domestica* представляет собой автополиплоидный вариант *P. cerasifera* (Zohary, Hopf, 2000), или же наоборот, *P. domestica* является гексаплоидом *P. spinosa*, причем переходной формой между ними служат терносливы (Hedrick, 1911). Однако обе эти гипотезы были опровергнуты результатами SNP-анализа большой выборки сортов сливы домашней методами GBS (genotyping-by-sequencing) (Zhebentyayeva et al., 2019).

Ранние работы по филогенетике *Prunus* основывались на морфологических данных (Hedrick, 1911; Rehder, 1940) и на результатах межвидовых скрещиваний (Rybin, 1936; Crane, Lawrence, 1952; Murawski, 1970; Eryomine, 1990). На более поздних этапах стали также использовать данные изоферментного анализа (Badenes, Parfitt, 1995). В настоящее время для установления филогенетических взаимоотношений видов рода *Prunus* преимущественно применяют ДНК-маркеры и, в частности, маркеры локусов пластидной ДНК (хлДНК). Подобные исследования связаны или с прямым секвенированием последовательностей пластидного генома для проведения ДНК-штрихкодирования (Matveeva et al., 2011), или с проведением рестрикционного анализа, то есть с использованием CAPS-маркеров (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences).

Разными авторами была изучена диагностическая ценность последовательностей хлДНК для проясне-

ния филогенетических взаимоотношений сливы домашней и ее предполагаемых предков путем секвенирования. Были апробированы последовательности спейсеров *trnL-trnF*, *trnS-trnG*, *trnH-psbA*, *petL-psbE*, *atpI-atpH* и другие (Bortiri et al., 2001; 2006; Shaw et al., 2007; Sayed et al., 2023; Halász et al., 2023), а также последовательности генов *ndhF*, *rbcL*, *matK* (CBOL, 2009). В исследованиях J. Shaw с соавторами (Shaw et al., 2007) выявлена наибольшая информативность последовательностей *trnH-psbA* и *trnS-trnG* для анализа видов рода *Prunus*. Гены *matK*, *rbcL* и спейсер *trnH-psbA* были рекомендованы консорциумом CBOL как стандартные для проведения штрихкодирования у растений (CBOL, 2009).

A. Reales с соавторами (Reales et al., 2010) на основе секвенирования последовательностей, фланкированных так называемыми универсальными праймерами (способными отжигаться на хлДНК различных видов и родов), показал монофилетичность секции *Prunus*, в которую входят слива домашняя и ее сородичи, при этом образцы *P. domestica* кластеризовались совместно с алычой, но отделялись от терна *P. spinosa*.

Углубить исследования межвидовых и внутривидовых связей внутри секции *Prunus* позволило использование высокопроизводительных методов секвенирования нового поколения (New Generation Sequencing, NGS). В частности, анализ обширной выборки из 405 образцов различных видов (*Prunus domestica*, *P. spinosa*, *P. cerasifera*, *P. brigantina* Vill., *P. simonii* Carriere) методом RAD-Seq (Restriction Site Associated DNA Sequencing) дал возможность более детально изучить генетическую изменчивость и определить родственные связи между европейскими и восточноазиатскими представителями секции *Prunus* (Zhebentyayeva et al., 2019). Анализ хлДНК в работе этих авторов показал, что *P. cerasifera* является наиболее вероятным предком сливы домашней с материнской стороны. При этом, однако, был выявлен особый тип пластидного генома 'Т', который отсутствовал у образцов терна и алычи и оказался специфичен для слив группы д'Ажен (d'Agen prune plums). Это позволило авторам сделать предположение о возможном участии в формировании генома *P. domestica* третьего вида (Zhebentyayeva et al., 2019).

Рестрикционный анализ ПЦР-продуктов, то есть использование CAPS-маркеров, является гораздо более бюджетным вариантом использования молекулярных методов, поэтому его также часто применяют в филогенетических исследованиях (Mohanty et al., 2000; 2002; 2003; Horvath et al., 2011; Ternjak et al., 2023). При этом авторы используют так называемые универсальные праймеры, которые разработаны на основе консенсусных последовательностей локусов хлДНК и способны давать ПЦР-продукты по матрице ДНК растений разных родов, семейств и даже типов: мхов, папоротников, голосемен-

ных, покрытосеменных (Taberlet et al., 1991; Demesure et al., 1995; Dumolin-Lapegue et al., 1997). Соответственно, изучаемые с помощью этих праймеров локусы хлДНК являются умеренно полиморфными. Невысокий уровень детектируемого полиморфизма снижает точность реконструкции филогенетических связей, особенно среди недавно дивергировавших таксонов (Wolfe, Randle, 2004).

Целью нашей работы была разработка праймеров, специфичных для пластидного генома видов секции *Prunus*, и создание на их основе CAPS-маркеров, пригодных для филогенетического анализа сливы домашней и ее сородичей, а также для генотипирования образцов коллекций.

## Материалы и методы

**Растительный материал.** Апробацию праймеров и подбор рестриктаз проводили на небольшой выборке из 16 образцов, включающей в себя семь образцов алычи *P. cerasifera* ('Гейджа Султани', к-30711; 'Ласточка', к-14772; 'Никитская Желтая', к-3784; 'Превосходная Шунтукская', к-4296; Саади Резайе, к-18419; Ткемали 35, к-12085; образец *var. pissardi* 22, к-9618), четыре сорта сливы домашней *P. domestica* ('Венгерка Калифорнийская', к-3589; 'Мирабель Зеленая', к-3741; 'Ренклюд Доре', к-9650; 'Drop More Blue', к-28394), один сорт 'Гек' (к-43209) гибридного вида *Prunus* × *rossica* Eremín., два межвидовых гибрида с терном – 'Терн алычовый', к-4346 (*P. spinosa* × *P. cerasifera*) и 'Терн душистый', к-43464 ('Тока' × *P. spinosa*), а также две местные формы терна – Волжский, к-15084; и Соляновский крупноплодный, к-43467).

Разработанные CAPS-маркеры были использованы для анализа экспериментальной выборки, насчитывающей 43 образца видов секции *Euprunus* рода *Prunus*, а именно 19 сортов *P. domestica*, 16 образцов *P. spinosa*, семь сортов *P. cerasifera* и один гибрид с участием сливы китайской *P. salicina* ('Black Star'). Полный список образцов экспериментальной выборки приведен в Приложении/ Supplement<sup>1</sup>.

**Выделение ДНК** из листьев и почек отобранных образцов проводили с использованием модифицированного метода СТАВ-экстракции, принятого в отделе биотехнологии ВИР (Antonova et al., 2020). При использовании листьев на поздних этапах вегетации растений растертый материал предварительно обрабатывали буфером на основе сорбитола (Inglis et al., 2018), что обеспечивало устранение окисленных полифенольных соединений. Контроль качества выделенной ДНК проводили при помощи нанофотометра Implen N60 (Implen, Германия).

**Проведение ПЦР.** Основная часть праймеров для работы (таблица) была разработана нами на основе анализа последовательности хлДНК *Prunus cerasifera*

<sup>1</sup> Приложение доступно в онлайн версии статьи/ The supplement is available in the online version of the paper: DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-03

Таблица. Используемые в работе праймеры, а также комбинации праймер-рестриктаза  
Table. Primers used in the work, as well as primer-restriction enzyme combinations

№	Локус специфичная ДНК/ Locus specific DNA	Название праймера/ Primer name	Последовательность (5'→3')/ Sequence (5'→3')	Tm	Апробированные рестриктазы, жирным шрифтом выделены полиморфные варианты/ Tested restriction enzymes, polymorphic variants are highlighted in bold	Разработанный CAPS-маркер/ Developed CAPS marker	Число рестрикционных профилей/ Number of restriction profiles
Праймеры, разработанные на основе хлДНК <i>Prunus cerasifera</i> var. <i>pissardii</i> (номер в Генбанке #MN418903)/ Primers developed based on the cpDNA of <i>Prunus cerasifera</i> var. <i>pissardii</i> (Genbank accession #MN418903)							
1	<i>ndhF/ rpl32</i>	PlumCP1	F: taattgtttctgattcacggg R: gatatccctctcttttccaaa	53	– нет ПЦР-продукта	–	–
2	<i>trnH/ psbA</i>	PlumCP2	F: attaaatttatggcgaaacga R: tgcataattttccctctaga	53	– нет ПЦР-продукта	–	–
3	<i>rpl20/ clpP</i>	PlumCP3	F: gttgatgcataataacaggatt R: caaatccaatcacctcaattt	51	AluI, Bst MBI, Dra I, Hinf I, Hpa II, Rsa I, <b>Sse 9I</b> , Taq I	–	–
4		PlumCP4	F: gacctgttagtccgttctt R: tatgcacaaaggacagggcaaa	54	Alu I, Dra I, Rsa I, Taq I	–	–
5	<i>psbE/ petL</i>	PlumCP5	F: atattctgtacagtcag R: gataagatcaatcgaaacta	47	Alu I, Hinf I, Rsa I, Taq I	–	–
6		PlumCP6	F: gacaaaatgtaaacctagt R: gctagtgaataaaccaata	47	Alu I, Bst MB I, Dra I, Hinf I, Hpa II, Rsa I, Sse 9I, Taq I	–	–
7	<i>ndhC/ trnV</i>	PlumCP7	F: gatatactcagaatgcccgag R: aagtttgaicgtttttaccga	51	– (нет ПЦР-продукта)	–	–
8	<i>trnR/ atpA</i>	PlumCP8	F: tctctaa'tggtagtagcacagag R: aaacaatc'aatc'atc'ccc	53	– (нет ПЦР-продукта)	–	–
9	<i>trnS/ trnG</i>	PlumCP9	F: tagtggtaaaag'tgtg'atc'g R: agataaaag'taaa'agc'ggg'tag	53	Alu I, Bst MBI, Hinf I, Mnl I, Taq I	–	–
10	<i>rbcL/ accD</i>	PlumCP10	F: tgcctcgtagggtaataa R: acctgtattctaa'ctcc'cat	53	Alu I, Bam HI, <b>Bst MB I</b> , <b>Sse 9I</b> , <b>Tru 9I</b>	–	–
11	<i>trnC/ petN</i>	PlumCP11	F: caccaaaagaatc'gaaat'ac R: aagggaac'gtaa'agact'ac	54	Alu I, Hinf I, Hpa II, Mnl I	–	–
12	<i>rps16/ trnQ</i>	PlumCP12	F: gatgtaagaatccac'agc'gg R: gcataacctgacc'cataat'att	55	Dra I, <b>Eco RV</b> , <b>Hinf I</b> , <b>Rsa I</b> , <b>Sse 9I</b>	PlumCP12/ HinfI	3

Таблица. Продолжение

№	Локус специфичная ДНК/ Locus specific DNA	Название праймера/ Primer name	Последовательность (5' → 3')/ Sequence (5' → 3')	T <sub>m</sub>	Апробированные рестриктазы, жирным шрифтом выделены полиморфные варианты/ Tested restriction enzymes, polymorphic variants are highlighted in bold	Разработанный CAPS-маркер/ Developed CAPS marker	Число рестрикционных профилей/ Number of restriction profiles
13	<i>rpoB/ trnC</i>	PlumCP13	F: ccaggtagttagatattgcc R: cccataggaattttcaggaa	53	Alu I, Bst DEI, <b>Bst MBI</b> , Hinf I, Mnl I, Rsa I, Taq I, Tru 9I	PlumCP13/ BstMBI	5
14		PlumCP14	F: gagataatgagacaaggcat R: gccaaaacgatgcaaatata	51	<b>Alu I</b> , <b>Bam HI</b> , <b>Rsa I</b> , Taq I	PlumCP14/ AluI	2
15	<i>rp132/ trnL-UAG</i>	PlumCP15	F: tgttttaatttagaaggcgc R: aaacaatgtctgtctctgttt	52	Dra I, Hinf I, <b>Rsa I</b> , Taq I	–	–
16		PlumCP16	F: cactataaaactctttaaccca R: gcttacctatttcaccatagc	55	Bst MBI, Dra I, Hinf I, <b>Rsa I</b> , Sse 9I, Taq I	PlumCP16/ RsaI	5
17	<i>trnK/ rps16</i>	PlumCP17	F: acgtttgtacatattcggta R: ttctacttttccctttatcttc	51	Bam HI, Dra I, Rsa I, <b>Bst DEI</b>	PlumCP17/ BstDEI	3
18		PlumCP18	F: cccgtctcttatgtttatcca R: cgccttaatacaacaacaaa	51	Alu I, Bam HI, <b>Bst DEI</b> , Bst MBI, Hinf I, Rsa I, Sse 9I, Tru 9I,	PlumCP18/ BstDEI	3
19	<i>matK</i>	PlumCP19	F: tatccaataacsaatccgac R: tacaattaacctctctcggga	53	Bam HI, Hinf I, Rsa I, <b>Taq I</b>	PlumCP19/ TaqI	3
20		PlumCP20	F: aagccagaattgattttcctt R: ttcgggagtatatattatgcac	51	Bst MB I, Dra I, Hae III, Hinf I, Hpa II, Mnl I, Rsa I, Sse 9I	–	–
21	<i>atpB/ rbcL</i>	PlumCP21	F: ctaccagagcgttgtaaatat R: aatctttaacaccagctttga	51	Alu I, Hinf I, Hpa II, Rsa I, Sse 9I	–	–
Праймеры, отобранные по опубликованным данным (Fazeakas et al., 2008; Kamnev et al., 2023) Primers selected based on published data (Fazeakas et al., 2008; Kamnev et al., 2023)							
22	<i>atpF/ atpH</i>	FH	F: actgcacacactcccttcc R: gctttatggaagcfttaacaat	61	Alu I, Bst DEI, Hinf I, <b>Taq I</b>	RubPlast1/ TaqI	2
23	<i>peN/ psbM</i>	RubPlast 9	F: cttacatttcccttccactc R: gccaaagggtgatttaattgaatt	53	Alu I, Hae III, <b>Hinf I</b> , <b>Taq I</b>	RubPlast 9/ Taq I	9
24	<i>rbcL/ accD</i>	RubPlast 10	F: gcaattacttactgttagtctc R: tagcctacaccgtgtattctaac	60	Bam HI, <b>Kzo 9I</b> , Sse 9I, <b>Ssp I</b> , <b>Taq I</b> , Tru 9I	RubPlast 10/ Taq I	3

var. *pissardii* (Carrière) L.H. Bailey (No. #MN418903, GenBank, 2025). Локусы отбирали из числа межгенных спейсеров в уникальном участке LSC (large single copy – большой однокопийный район). Праймеры были созданы с использованием программного обеспечения Primer3Plus (Untergasser, 2025) и дополнительно проверены на отсутствие внутренних шпилек и самоотжига при помощи инструмента OligoAnalyzer™ Tool (IDT, 2025).

Также мы апробировали несколько праймеров, успешно применяемых для анализа полиморфизма сортов и образцов видов малины (Kamnev et al., 2023). Большое сходство геномов розоцветных, возможность перекрестного использования маркеров, разработанных для одного рода, применительно к другим родам семейства Rosaceae (Decroocq et al., 2003; Shaw et al., 2007; Illa et al., 2011) давало основание полагать, что маркеры для рода *Rubus* L. будут успешны и для представителей рода *Prunus*. Действительно, нам удалось амплифицировать последовательности трех межгенных спейсеров, а именно *atpF/atpH*, *petN/psbM* и *rbcL/accD*. Однако остальные праймеры не давали четких ампликонов. Окончательный список праймеров приведен в таблице.

ПЦР осуществляли в 20 мкл реакционной смеси следующего состава: 40 нг ДНК-матрицы, 1х реакционный буфер, 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,4 mM каждого из dNTP's, по 0,1 мкМ прямого и обратного праймеров и 1 ед. Таq-полимеразы (Dialat, Россия).

Амплификацию проводили по следующей программе: 94°C – 4 мин, затем 37 циклов: [94°C – 45 с, температура отжига T<sub>m</sub> – 45 с, 72°C – 60 с], и финальная элонгация при 72°C в течение 10 мин.

**Рестрикция и электрофорез.** Готовые ПЦР-продукты обрабатывали рестриктазами (СибЭнзим, Россия) в течение 16 часов согласно инструкции производителя. Предварительно для каждого ампликона были определены перспективные рестриктазы, сайты которых присутствовали в его последовательности. Выявление сайтов проводили при помощи программного обеспечения Sequence Manipulation Suite. Version 2 (Stothard, 2000). Для каждой последовательности апробировали от четырех до восьми рестриктаз (см. таблица).

Рестрикционные фрагменты разделяли электрофорезом в горизонтальных 2%, 2,5% и 3% агарозных гелях в буфере TBE при напряжении 5 В/см длины геля в течение 1,5-4 часов. В качестве маркеров молекулярного веса использовали ДНК Step 100 (Biolabmix, Россия) и DNA Ladder 50+ bp (Евроген, Россия). Гели окрашивали бромистым этидием и визуализировали в проходящем УФ-свете на установке Gel Doc XR+ (BioRad, США).

## Результаты

В процессе анализа полногеномной последовательности хлДНК алычи *Prunus cerasifera* var. *pissardii* (Carrière) L.H. Bailey (номер в Генбанке #MN418903) было выявлено 130 межгенных спейсеров, из которых 96 были рас-

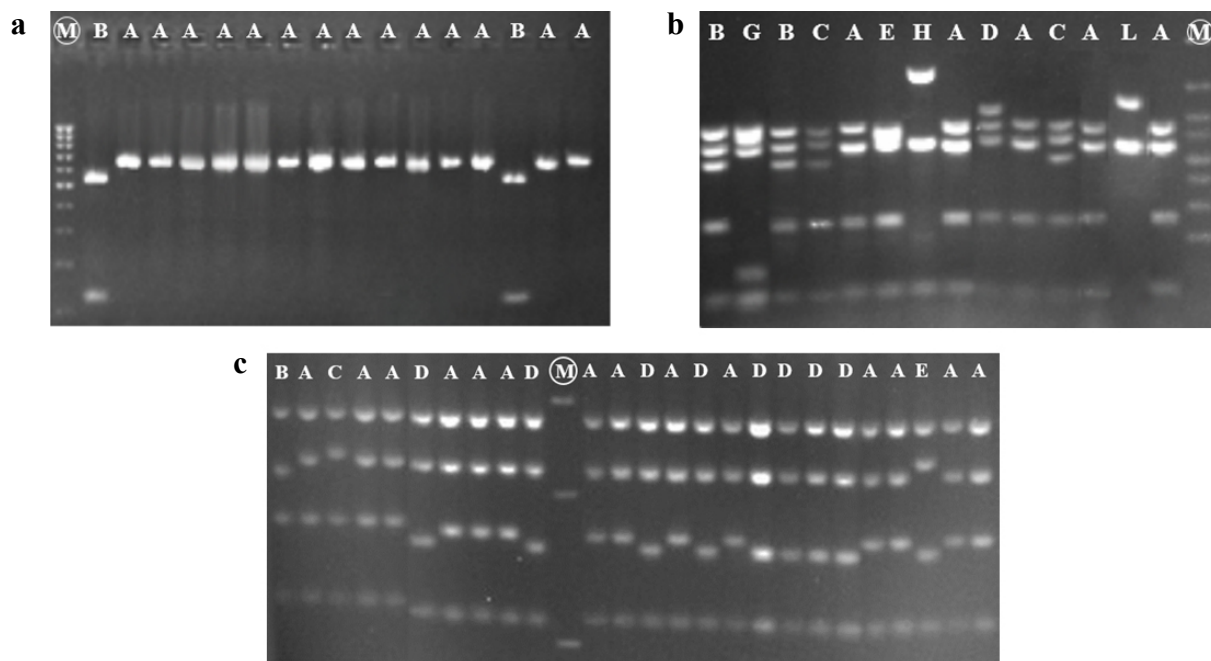
положены в уникальных участках LSC и SSC. Из них мы отобрали для анализа 14 межгенных спейсеров и ген *matK*, который традиционно рекомендуется для проведения филогенетических исследований и ДНК-штрихкодирования (CBOL, 2009; Sayed et al., 2023). Для этих последовательностей были разработаны специфичные праймеры; в случае спейсеров большого размера было сконструировано по две пары праймеров, генерирующих частично перекрывающиеся ампликоны.

Апробацию праймеров и подбор рестриктаз проводили на небольшой выборке из 16 образцов сливы домашней, алычи и сливы русской из коллекции Майкопской ОС – филиала ВИР. Четыре из 21 пары праймеров оказались неспособны генерировать четкие ПЦР-продукты (см. таблица). ПЦР-продукты остальных 17 пар праймеров были обработаны различными рестриктазами, сайты которых присутствовали в соответствующих последовательностях. Дополнительно в этот анализ вовлекли ампликоны трех пар праймеров, подобранных по опубликованным источникам (см. таблица). В результате было отобрано 10 комбинаций праймер-рестриктаза, потенциально способных генерировать CAPS-маркеры, дающие возможность различать между собой образцы тестовой выборки, включающей в себя 16 генотипов.

Для подтверждения диагностической ценности отобранных маркеров мы провели анализ расширенной выборки образцов, состоящей из 43 генотипов (см. Приложение/ see the Supplement). При этом для разработанных CAPS-маркеров был выявлен разный уровень детектируемого полиморфизма. Большая часть маркеров давала от трех до пяти вариантов рестрикционных профилей. Наименьшим оказался полиморфизм последовательностей *atpF/atpH* (маркер FH/Taq I) и часть спейсера *rpoB/trnC*, прилегающая к гену *trnC* (маркер PlumCP14/Alu I) – в них было выявлено только по два варианта спектров рестрикционных фрагментов (рис. 1а). Интересно, что другая часть того же спейсера *rpoB/trnC* оказалась более полиморфной – маркер PlumCP13/Bst MBI генерировал пять вариантов спектров. Самый высокий уровень изменчивости обнаружен в локусе *petN/psbM* (маркер RubPlast 9/Taq I) – девять вариантов спектров рестрикционных фрагментов (см. таблица, рис. 1б).

Сочетание вариантов рестрикционных профилей всех маркеров у каждого образца мы определили как его гаплотип. Всего у 43 образцов выборки было выделено 20 гаплотипов (см. Приложение/ see the Supplement). Наибольшее число гаплотипов (восемь) было найдено у 16 образцов терна (0,5 гаплотипа на образец). У сливы домашней (изучено 19 образцов) и у алычи (семь образцов) было найдено семь и пять гаплотипов – соответственно 0,37 и 0,71 на образец (рис. 2). Таким образом, наибольшей вариабельностью пластидных локусов по предварительным данным обладала алыча *P. cerasifera*. Используемый в качестве представителя аутгруппы гибрид сливы китайской 'Black Star' обладал уникальным гаплотипом.



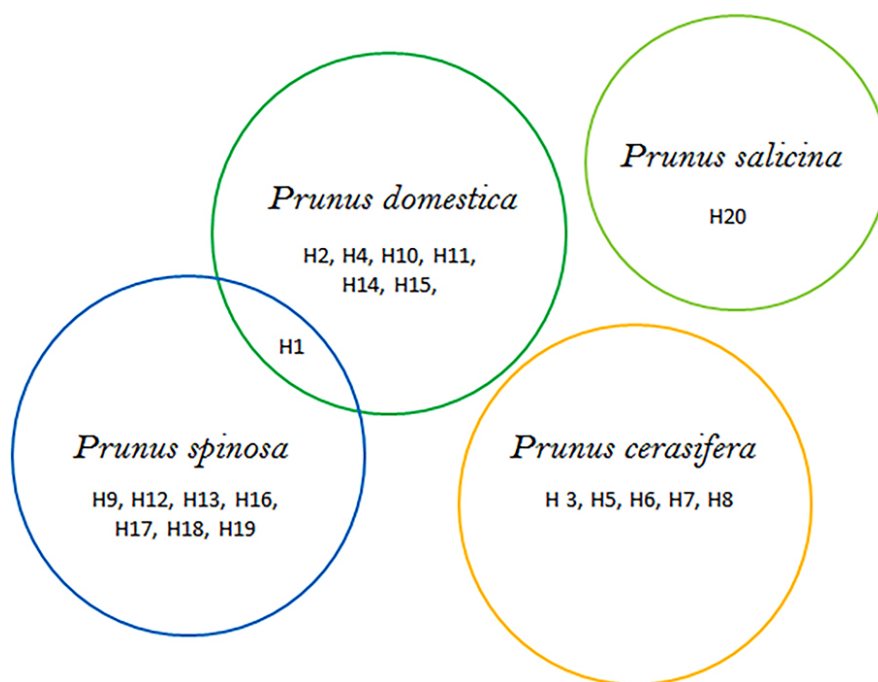


**Рис. 1** Примеры маркерных рестрикционных профилей пластидных локусов с различным уровнем полиморфизма

а) – слабый уровень полиморфизма, маркер FH/Taq, спейсер *atpF/atpH*; б) – высокий уровень полиморфизма, маркер RubPlast9/Taq, спейсер *petN/psbM*; в) – средний уровень полиморфизма, маркер PlumCP13/BstMBI, спейсер *rpoB/trnC*. М – маркер молекулярного веса: а) и в) – ДНК Step100, б) – DNA Ladder 50+ bp

**Fig. 1.** Examples of marker restriction profiles at plastid loci with different levels of polymorphism

а) – low level of polymorphism, FH/Taq marker, *atpF/atpH* spacer; б) – high level of polymorphism, RubPlast9/Taq marker, *petN/psbM* spacer; в) – medium level of polymorphism, PlumCP13/BstMBI marker, *rpoB/trnC* spacer. M – DNA-Ladder: а) and в) – DNA Step 100, б) – DNA Ladder 50+ bp



**Рис. 2.** Распределение гаплотипов между видами в изученной выборке

**Fig. 2.** Distribution of haplotypes between species in the studied subset

При анализе распределения гаплотипов по видам было выявлено единственное пересечение – гаплотип H1 имели одновременно образцы сливы домашней и терна. Все остальные гаплотипы были ассоциированы с определенными видами (см. рис. 2). Очевидно, что при расширении состава выборки могут появиться как дополнительные гаплотипы, так и дополнительные их пересечения между видами, однако уже на этом этапе общность пластид терна и сливы домашней представляет интерес, поскольку изученные к настоящему времени сорта *P. domestica* имели цитоплазму от алычи (Reales et al., 2010; Horvath et al., 2011; Zhebentyayeva et al., 2019).

Необходимо отметить, что уровень полиморфизма, зарегистрированный при помощи разработанного нами набора праймеров, был ощутимо выше, чем при использовании маркеров на основе универсальных праймеров. Например, в работе Ternjak с соавторами (Ternjak et al., 2023) при сопоставимом количестве маркеров в существенно большей выборке, насчитывающей 124 образца, было выявлено только 10 гаплотипов, в то время как нами зарегистрировано 20 гаплотипов в выборке из 43 образцов.

## Заключение

Таким образом, на основе анализа хлДНК алычи *P. cerasifera* var. *pissardii* (GenBank No. #MN418903) и использования праймеров, разработанных для анализа представителей рода *Rubus* (Fazekas et al., 2008; Kamnev et al., 2023), нами были разработаны CAPS-маркеры пластидных локусов, успешно детектирующие полиморфизм у сливы домашней и у наиболее близких к ней видов. Маркеры будут использованы для скрининга коллекций косточковых культур, что позволит сделать выводы о филогенетических взаимоотношениях видов, относящихся к подроду *Prunophora*.

## References/Литература

- Antonova O.Yu., Klimenko N.S., Rybakov D.A., Fomina N.A., Zheltova V.V., Novikova L.Yu., Gavrilenko T.A. SSR analysis of modern Russian potato varieties using DNA samples of nomenclatural standards. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2020;3(4):77-96. [in Russian] (Антонова О.Ю., Клименко Н.С., Рыбаков Д.А., Фомина Н.А., Желтова В.В., Новикова Л.Ю., Гавриленко Т.А. SSR-анализ современных российских сортов картофеля с использованием ДНК номенклатурных стандартов. *Биотехнология и селекция растений*. 2020;3(4):77-96). DOI: 10.30901/2658-6266-2020-4-o2
- Badenes M.L., Parfitt D.E. Phylogenetic relationships of cultivated *Prunus* species from an analysis of chloroplast DNA variation. *Theoretical and Applied Genetics*. 1995;90:1035-1041. DOI: 10.1007/BF00222918
- Bortiri E., Oh S.-H., Jiang J., Baggett S., Granger A., Weeks C., Buckingham M., Potter D., Parfitt D.E. Phylogeny and systematics of *Prunus* (Rosaceae) as determined by sequence analysis of ITS and the chloroplast *trnL-trnF* spacer DNA. *Systematic Botany*. 2001;26(4):797-807. DOI: 10.1043/0363-6445-26.4.797
- Bortiri E., Vanden Heuvel B., Potter D. Phylogenetic analysis of morphology in *Prunus* reveals extensive homoplasy. *Plant Systematics and Evolution*. 2006;259:53-71. DOI: 10.1007/s00606-006-0427-8
- CBOL – The Consortium for the Barcode of Life. Plant Working Group. A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*. 2009;106(31):12794-12797. DOI: 10.1073/pnas.0905845106
- Crane M., Lawrence W. Genetics of Garden Plants. London, UK: MacMillan; 1934.
- Crane M., Lawrence W. The genetics of garden plants. 4<sup>th</sup> ed. London, UK: Macmillan; 1952.
- Decroocq V., Favé M.G., Hagen L., Bordenave L., Decroocq S. Development and transferability of apricot and grape EST microsatellite markers across taxa. *Theoretical and Applied Genetics*. 2003;106:912-922. DOI: 10.1007/s00122-002-1158-z
- Demesure B., Sodzi N., Petit R. A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants. *Molecular ecology*. 1995;4:129-132. DOI: 10.1111/j.1365-294X.1995.tb00201.x
- Dumolin-Lapegue S., Pemonge M.H., Petit R.J. An enlarged set of consensus primers for the study of organelle DNA in plants. *Molecular ecology*. 1997;6:393-397. DOI: 10.1046/j.1365-294X.1997.00193.x
- Eryomine G.V. New data on origin of *Prunus domestica* L. *Acta Horticulturae*. 1990;283-2:27-30. DOI: 10.17660/ActaHortic.1990.283.2
- Eremin G.V. Systematics of stone fruit plants (Sistematika kostochkovykh plodovykh rasteniy). In: Eremin G.V. (ed.) Pomology. Vol. 3. Stone fruit crops (Pomologiya. T. 3. Kostochkovye kultury). Orel: GИУ VNIISPК; 2008. p.15-20. [in Russian] (Еремин Г.В. Систематика косточковых плодовых растений. В кн.: Еремин Г.В. (ред.), Помология. Т. 3. Косточковые культуры. Орел: ГИУ ВНИИСПК; 2008. С.15-20).
- FAO. The Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available at: <https://www.fao.org/faostat/ru/#data/QCL> [accessed May 25, 2025]
- GenBank. National Institutes of Health (NIH, USA) genetic sequence database, an annotated collection of all publicly available DNA sequences. GenBank No. #MN418903. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>
- Halász J., Szendy G., Ivanovska B., Tóth E.G., Hegedűs A. The self-incompatibility locus and chloroplast DNA regions of *Prunus domestica* reflect the origin and genetic diversity of traditional cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 2023;148(5):230-239. DOI: 10.21273/JASHS05330-23
- Hedrick U.P. The Plums of New York. Albany: J.B. Lyon Co., State Printers; 1911.
- Horvath A., Balsemin E., Barbot J.C., Christmann H., Manzano G., Reynet P., Laigret F., Mariette S. Phenotypic variability and genetic structure in plum (*Prunus domestica* L.), cherry plum (*P. cerasifera* Ehrh.) and sloe (*P. spinosa* L.). *Scientia Horticulturae*. 2011;129:283-293.
- IDT. Integrated DNA Technologies. OligoAnalyzer™ Tool. Available at: <https://eu.idtdna.com/calc/analyzer> [accessed Jun. 12, 2025].
- Illa E., Sargent D.J., Girona E.L., Bushakra J., Cestaro A., Crowhurst R., Pindo M., Cabrera A., Van der Knapp E., Iezzoni A., Gardiner S., Velasco R., Arus P., Chagné D., Troggio M. Comparative analysis of rosaceous genomes and the reconstruction of a putative ancestral genome for the family. *BMC Evolutionary Biology*. 2011;11(9):1-13. DOI: 10.1186/1471-2148-11-9
- Inglis P.W., Pappas M.C.R., Resende L.V., Grattapaglia D. Fast and inexpensive protocols for consistent extraction of high quality DNA and RNA from challenging plant and fungal samples for high throughput SNP genotyping and sequencing applications. *PLoS ONE*. 2018;13(10):1-14. DOI: 10.1371/journal.pone.0175044
- Kamnev A.M., Antonova O.Y., Chukhina I.G. Development of CAPS-markers for studying plastid loci polymorphism in *Rubus* L. subgenus *Idaeobathus* Focke. *Problems of botany of South Siberia and Mongolia*. 2023;22(2):116-121. [in Russian] (Камнев А.М., Антонова О.Ю., Чухина И.Г. Разработка CAPS-маркеров для изучения полиморфизма пластидных локусов представителей подрода *Idaeobathus* Focke рода *Rubus* L. *Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии*.

- 2023;22(2):116-121). DOI: 10.14258/pbssm.2023110
- Komarov V.L. Rosaceae: Rosoideae, Amygdaloideae. In: *Flora of the USSR*. Vol.10. Washington D.C., USA: Smithsonian Institution; 1971. p.1-512.
- Matveeva T.V., Pavlova O.A., Bogomaz D.I., Demkovich A.E., Lutova L.A. Molecular markers for plant species identification and phylogenetics. *Ecological Genetics*. 2011;9(1):32-43. [in Russian] (Матвеева Т.В., Павлова О.А., Богомаз Д.И., Демкович А.Е., Лутова Л.А. Молекулярные маркеры для видоидентификации и филогенетики растений. *Экологическая генетика*. 2011;9(1):32-43). DOI: 10.17816/ecogen9132-43
- Mohanty A., Martín J.P., Aguinalde I. Chloroplast DNA diversity within and among populations of the allotetraploid *Prunus spinosa* L. *Theoretical and Applied Genetics*. 2000;100(8):1304-1310. DOI: 10.1007/s001220051439
- Mohanty A., Martín J.P., Aguinalde I. Population genetic analysis of European *Prunus spinosa* (Rosaceae) using chloroplast DNA markers. *American journal of botany*. 2002;89(8):1223-1228. DOI: 10.3732/ajb.89.8.1223
- Mohanty A., Martín J.P., González L.M., Aguinalde I. Association between chloroplast DNA and mitochondrial DNA haplotypes in *Prunus spinosa* L. (Rosaceae) populations across Europe. *Annals of Botany*. 2003;92(6):749-55. DOI: 10.1093/aob/mcg198
- Mowrey B.D., Werner D.J. Phylogenetic relationships among species of *Prunus* as inferred by isozymes markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 1990;80:129-133. DOI: 10.1007/BF00224026
- Murawski H.B. Die Bedeutung der poliploidie für die evolution der pflaume. Berlin: Tagungen. Dtsch. Akad. Landwirtschafte Wiss; 1970. [In German]
- Nas M.N., Bolek Y., Bardak A. Genetic diversity and phylogenetic relationships of *Prunus microcarpa* C.A. Mey. subsp. *tortosa* analyzed by simple sequence repeats (SSRs). *Scientia Horticulturae*. 2011;127(3):220-227. DOI: 10.1016/j.scienta.2010.09.018
- Potter D., Eriksson T., Evans R.C., Oh S., Smedmark J.E.E., Morgan D.R., Kerr M., Robertson K. R., Arsénault M., Dickinson T.A., Campbell C.S. Phylogeny and classification of Rosaceae. *Plant Systematics and Evolution*. 2007;266:5-43. DOI: 10.1007/s00606-007-0539-9
- Rybin W.A. Spontane und experimentell erzeugte bastarde zwischen schwarzdorn und kirschpflaume und das abstammungsproblem der kulturlpflaume. *Planta*. 1936;25:22-58. [in German] DOI: 10.1007/BF01909303
- Reales A., Sargent D.J., Tobutt K.R., Rivera D. Phylogenetics of Eurasian plums, *Prunus* L. section *Prunus* (Rosaceae), according to coding and non-coding chloroplast DNA sequences. *Tree Genetics & Genomes*. 2010;6(1):37-45. DOI: 10.1007/s11295-009-0226-9
- Rehder A. A manual of cultivated trees and shrubs hardy in North America, 2<sup>nd</sup> edn. New York: Macmillan; 1940.
- Reynders-Aloisi S., Grellet E. Characterization of the ribosomal DNA units in two related *Prunus* species (*P. cerasifera* and *P. spinosa*). *Plant Cell Reports*. 1994;13:641-646. DOI: 10.1007/BF00232937
- Shaw J., Lickey E.B., Schilling E.E., Small R.L. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *American Journal of Botany*. 2007;94:275-288. DOI: 10.3732/ajb.94.3.275
- Sayed H.A., Mostafa S., Haggag I.M., Hassan N.A. DNA barcoding of *Prunus* species collection conserved in the National Gene Bank of Egypt. *Molecular Biotechnology*. 2023;65(3):410-418. DOI: 10.1007/s12033-022-00530-z
- Stothard P. The Sequence Manipulation Suite: JavaScript programs for analyzing and formatting protein and DNA sequences. *Biotechniques*. 2000;28:1102-1104. Version 2. Available from: <https://www.bioinformatics.org/sms2/> [accessed Jun. 25, 2025].
- Taberlet P., Gielly L., Pautou G., Bouvet J. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant molecular biology*. 1991;17(5):1105-9. DOI: 10.1007/BF00037152
- Ternjak T., Barreneche T., Šiško M., Ivančič A., Šušek A., Quero-García J. Genetic diversity and structure of Slovenian native germplasm of plum species (*P. domestica* L., *P. cerasifera* Ehrh. and *P. spinosa* L.). *Frontiers of plant science*. 2023;14:1150459. DOI: 10.3389/fpls.2023.1150459
- Untergasser A. Primer3-org/ primer3plus. GitHub, Inc. Supported by EMBL Heidelberg. Available at: <https://www.primer3plus.com> [accessed Jun. 15, 2025].
- Vitkovsky V.L. Fruit plants of the world (Plodoviye rasteniy mira). St. Petersburg; Moscow; Krasnodar: Lan; 2003. [in Russian] (Витковский В.Л. Плодовые растения мира. Санкт-Петербург; Москва; Краснодар: Лань; 2003).
- Watkins R. Cherry, plum, peach, apricot and almond. In: N.W. Simmonds (ed.). *Evolution of crop plants*. London, UK: Longman; 1976. p.242-247.
- Wolfe A.D., Randle C.P. Recombination, heteroplasmy, haplotype polymorphism, and paralogy in plastid genes: implications for plant molecular systematics. *Systematic Botany*. 2004;29(4):1011-1020. DOI: 10.1600/0363644042451008
- Zhebentyayeva T., Shankar V., Scorza R., Callahan A., Ravelonandro M., Castro S., DeJong T., Saski C.A., Dardick C. Genetic characterization of worldwide *Prunus domestica* (plum) germplasm using sequence-based genotyping. *Horticulture Research*. 2019;6:12. DOI: 10.1038/s41438-018-0090-6
- Zhukovsky P.M. Cultivated plants and their relatives: systematics, geography, cytogenetics, immunity, ecology, origin, and utilization (Kul'turnyie rasteniy i ikh sorodichi). Leningrad: Kolos; 1971. [in Russian] (Жуковский П.М. Культурные растения и их сородичи: систематика, география, цитогенетика, иммунитет, экология, происхождение, использование. Ленинград: Колос; 1971).
- Zohary D., Hopf M. Domestication of plants in the old world. Oxford, UK: Oxford University Press; 2000.

## Информация об авторах

**Адам Капланович Макаов**, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярной селекции и ДНК-паспортизации, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, a.makaov@vir.nw.ru <https://orcid.org/0009-0006-0142-9433>

**Ольга Емельяновна Радченко**, научный сотрудник, отдел генетических ресурсов плодовых культур, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, o.radchenko@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1712-2018>

**Ксения Романовна Криворучко**, магистрант, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, ksenia.criw@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0003-0221-4088>

**Ольга Юрьевна Антонова**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий, лаборатория молекулярной селекции и ДНК-паспортизации, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, olgaant326@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8334-8069>

---

### *Information about the authors*

**Adam K. Makaov**, Junior Researcher, Department of Biotechnology, Laboratory of Molecular Breeding and DNA Passportization, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, a.makaov@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0009-0006-0142-9433>

**Olga E. Radchenko**, Researcher, Department of Genetic Resources of Fruit Crops, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000 Russia, o.radchenko@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1712-2018>

**Ksenia R. Krivoruchko**, Master's Student, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, ksenia.criw@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0003-0221-4088>

**Olga Yu. Antonova**, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Head, Laboratory of Molecular Breeding and DNA Passportization, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, olgaant326@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8334-8069>

**Вклад авторов:** А.К.М. – отбор растительного материала, создание экспериментальной выборки, разработка праймеров, молекулярный скрининг, анализ результатов, подготовка рукописи; О.Е.Р. – отбор и передача растительного материала, заполнение базы данных об образцах терна с Павловской ОС; К.Р.К. – молекулярный скрининг, заполнение базы данных; О.Ю.А. – концептуализация, руководство исследованиями, разработка праймеров, анализ результатов, подготовка рукописи.

**Contribution of the authors:** A.K.M. – selection of plant material, creation of the experimental sample set, primer design, molecular screening, analysis of the results, manuscript preparation; K.P.K. – molecular screening, database filling; O.E.R. – selection and transfer of plant material, addition of blackthorn samples from Pavlovsk Experiment Station into the database; O.Yu.A. – conceptualization, research supervision, primer design, analysis of the results, manuscript preparation.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interests:** the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 17.06.2025; одобрена после рецензирования 18.07.2025; принята к публикации 08.09.2025.

The article was submitted on 17.06.2025; approved after reviewing on 18.07.2025; accepted for publication on 08.09.2025.

Научная статья

УДК 635.21:576.311:575.13

DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-01



## Новый маркер для определения А-типа хлоропластной ДНК у длительно хранящихся гербарных образцов культурных видов картофеля

Н.А. Оськина, О.Ю. Антонова, Т.А. Гавриленко

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

**Автор, ответственный за переписку:** Татьяна Андреевна Гавриленко, tatjana9972@yandex.ru

В Гербарии культурных растений мира, их диких родичей и сорных растений (WIR) Федерального исследовательского центра Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР) хранится крупнейшая в России коллекция исторических образцов культурных видов картофеля. Образцы этой коллекции были собраны в 1925-1928 годах С.В. Юзепчуком и С.М. Букасовым – членами организованной Н.И. Вавиловым экспедиции в страны Латинской Америки. Этот материал представляет несомненный интерес для молекулярно-генетических исследований. В то же время, существует ряд методических ограничений, обусловленных различной степенью деградации ДНК растений, длительное время сохраняемых в гербарных коллекциях. Оригинальный набор ПЦР-маркеров, специфичных к разным локусам пластидной ДНК, разработанный японскими исследователями К. Hosaka и R. Sanetomo (2012), широко используется для исследований генетического разнообразия и происхождения культурных видов картофеля, сохраняемых в полевых и *in vitro* коллекциях разных генбанков. Применение данного набора в полном объеме для детекции разных типов хлоропластной ДНК (хлДНК) у длительно хранящихся гербарных образцов проблематично, поскольку в случае маркера А размер диагностического фрагмента превышает 1000 пн. В настоящей работе были разработаны новые праймеры А494 для детекции А-типа пластидной ДНК у ~100-летних гербарных образцов культурных видов картофеля. Результативность применения праймеров А494, с использованием которых ампликоны ожидаемого размера были получены для 22 из 25 гербарных образцов, была достоверно выше в сравнении с результатами, полученными с праймерами А из набора Hosaka и Sanetomo (2012) – ампликоны ожидаемого размера получены для пяти из 25 образцов. Расширенный набор маркеров для детекции различных типов хлДНК будет использован в дальнейшем для изучения исторической коллекции культурных видов картофеля, хранящейся в гербарии ВИР.

**Ключевые слова:** *Solanum*, виды картофеля, гербарий WIR, ДНК-маркеры, генбанк, коллекция

**Благодарности:** Работа выполнена в рамках Государственного задания согласно тематическому плану ВИР по темам: FGEM-2022-0006 и FGEM-2022-0008

**Для цитирования:** Оськина Н.А., Антонова О.Ю., Гавриленко Т.А. Новый маркер для определения А-типа хлоропластной ДНК у длительно хранящихся гербарных образцов культурных видов картофеля. *Биотехнология и селекция растений*. 2025;8(3):43-54. DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-01

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

© Оськина Н.А., Антонова О.Ю., Гавриленко Т.А., 2025



## Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-01

## A new marker for the detection of A-type chloroplast DNA in long-term stored herbarium specimens of cultivated potato species

Natalia A. Oskina, Olga Yu. Antonova, Tatjana A. Gavrilenko

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

**Corresponding author:** Tatjana A. Gavrilenko, tatjana9972@yandex.ru

The Herbarium of cultivated plants of the world, their wild relatives and weeds (WIR) at the N.I. Vavilov All-Russian institute of plant genetic resources (VIR) houses Russia's largest collection of historical herbarium specimens of cultivated potato species. The plant samples were collected in 1925-1928 by S.V. Yuzepchuk and S.M. Bukasov, members of an expedition to Latin American countries organized by N.I. Vavilov. This material is of undoubted interest for molecular genetics research. However, there are methodological limitations due to varying degrees of DNA degradation in plants preserved long-term in herbarium collections. The original set of PCR markers specific to different loci of plastid DNA, developed by Japanese researchers K. Hosaka and R. Sanetomo (2012), is widely used for studying the genetic diversity and origin of cultivated potato species maintained in field and *in vitro* collections of various Genebanks. Applying this marker set in full for detecting different types of chloroplast DNA (cpDNA) in historical herbarium specimens is problematic, as some primers in this set generate amplicons larger than 1000 bp. In this study, new primers A494 were developed to detect A-type plastid DNA in ~100-year-old herbarium specimens of cultivated potato species. The efficiency of A494 primers, with the use of which amplicons of the expected size were obtained for 22 of 25 herbarium specimens, was significantly higher compared to the results obtained with primers A from the Hosaka and Sanetomo (2012) set, that is, amplicons for five out of 25 specimens. The expanded marker set for detecting various cpDNA types will be used in further studies of historical herbarium collection of cultivated potato preserved in the VIR Herbarium.

**Keywords:** *Solanum*, potato species, WIR herbarium, DNA-markers, Genebank, collection**Acknowledgements:** The research was carried out according to the State Assignment to VIR, Topics FGEM-2022-0006 and FGEM-2022-0008**For citation:** Oskina N.A., Antonova O.Yu., Gavrilenko T.A. A new marker for the detection of A-type chloroplast DNA in long-term stored herbarium specimens of cultivated potato species. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2025;8(3):43-54. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-01**Financial transparency:** The authors have no financial interest in the presented materials or methods. The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employers.

© Oskina N.A., Antonova O.Yu., Gavrilenko T.A., 2025

## Введение

Первая классификация культурных видов картофеля *Solanum tuberosum* L., включающая 12 андийских культурных видов и один чилийский – *Solanum tuberosum sensu stricto* – была создана С.В. Юзепчуком и С.М. Букасовым (Juzepczuk, Bukasov, 1929), на основании изучения материалов, собранных ими в разных странах Латинской Америки в 1925-1928 годах в ходе экспедиции, организованной Н.И. Вавиловым. Позднее С.М. Букасов разработал внутривидовую классификацию тетраплоидных андийских и чилийских культурных видов картофеля (Bukasov, 1933). Аутентичные образцы, на основании которых были описаны сотни таксонов различного ранга, по сей день сохраняются в Гербарии культурных растений мира, их диких родичей и сорных растений (WIR) Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), где хранится крупнейшая в России коллекция исторических гербарных образцов культурных видов картофеля (Korovina et al., 1985; Ovchinnikova et al., 2011; Chukhina et al., 2016; Oskina et al., 2023). Часть этой коллекции сохраняется также в Гербарии высших растений (LE) Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН.

Изучение полиморфизма последовательностей хлоропластной ДНК (хлДНК) является одним из подходов к исследованию внутри- и межвидового разнообразия культурных видов картофеля и их происхождения. Первоначально, изучение полиморфизма хлДНК у культурных и родственных диких видов картофеля прово-

дили с использованием метода рестрикционного анализа (Hosaka, 1986; Hosaka, Hanneman, 1988a; 1988b; Hosaka et al., 1984), затем – методом RFLP-анализа (Hosaka et al., 1988; Sukhotu et al., 2004). В ставших классическими работах К. Hosaka с коллегами, на основании изучения полиморфных профилей рестрикционных фрагментов культурных видов картофеля, полученных с использованием рестриктаз BamHI, HindIII, KpnI, PvuII и XhoI, были идентифицированы пять основных (T, W, A, S, C) и несколько минорных типов хлДНК (Hosaka, 1986; 1995; Hosaka, Hanneman, 1988a). Разные типы хлДНК картофеля отличаются друг от друга специфическими делециями или мутациями в определенных рестрикционных сайтах. Так, для T-типа хлДНК характерна делеция размером 241 пн в межгенном спейсере *ndhC/trnV*; S-тип имеет специфическую делецию размером 48 пн в межгенном спейсере *rps16/trnQ*; у носителей C-типа хлДНК выявлена мутация в локусе *semA*, вследствие которой утрачивается сайт распознавания рестриктазы BamHI; обладатели A-типа хлДНК имеют характерную мутацию в локусе *grl32/ccsA*, вследствие которой образуется сайт распознавания рестриктазы BamHI; W-тип – дикий тип (Hosaka, 1986).

С развитием методов ПЦР-диагностики RFLP-маркеры были конвертированы в SCAR- и CAPS- маркеры. Японскими исследователями К. Hosaka и R. Sanetomo (Hosaka, Sanetomo, 2012) был разработан набор ПЦР-маркеров для идентификации основных типов хлДНК культурных видов картофеля и близкородственных им диких видов (табл. 1).

**Таблица 1. Определение типов хлДНК у образцов культурных видов картофеля с помощью набора маркеров, разработанных Hosaka, Sanetomo (Hosaka, Sanetomo, 2012)**

**Table 1. Identification of cpDNA types in cultivated potato species using the marker set designed by Hosaka, Sanetomo (Hosaka, Sanetomo, 2012)**

Тип хлДНК/ Type of cpDNA	Маркеры для определения типов хлДНК культурных видов картофеля/ Marker for identification of cpDNA types in cultivated potato species			
	H1	SAC	A	S
	Праймеры и рестриктазы для определения основных типов хлДНК/ Primers and restriction enzymes for identification of basic cpDNA types			
	H1	SAC/BamHI	A/BamHI	NTCP6
	Размеры ампликонов (пн) / Amplicon size (bp)			
	202 – T-тип; 443 – не T-тип	312	1178	127– S-тип; 175 – не S-тип
T	делеция 241 пн	рестрикция ПЦР-продуктов	нет рестрикции	нет делеции
S	нет делеции	нет рестрикции	нет рестрикции	делеция 48 пн
C	нет делеции	нет рестрикции	нет рестрикции	нет делеции
A	нет делеции	нет рестрикции	рестрикция ПЦР-продуктов	нет делеции
W	нет делеции	рестрикция ПЦР-продуктов	нет рестрикции	нет делеции

Разработанный японскими исследователями набор праймеров демонстрирует высокую диагностическую ценность и его использование позволяет сравнивать и обобщать результаты изучения *ex situ* коллекций различных генбанков, полученных в разных лабораториях. В ходе исследований обширных выборок образцов культурных видов картофеля, сохраняемых в полевых и в *in vitro* коллекциях генбанков разных стран (NRSP6, США; CIP, Перу; VIR, РФ), было показано, что Т-тип хлДНК характерен для чилийских аборигенных сортов *S. tuberosum* (Hosaka, Hanneman, 1988a; Hosaka, 2003; 2004; Spooner et al., 2007; Gavrilenko et al., 2013); S-тип – для большинства образцов андийских диплоидных видов (*Solanum stenotomum* Juz. et Buk., *Solanum goniocalyx* Juz. et Buk., *Solanum phureja* Juz. et Buk.) и пентаплоидного *Solanum curtilobum* Juz. et Buk. (Hosaka, 1995; Sukhotu et al., 2004; 2006; Sukhotu, Hosaka, 2006; Hosaka, Sanetomo, 2009; Gavrilenko et al., 2013); С-тип преобладает у образцов гибридогенных культурных видов *Solanum ajanhuiri* Juz. et Buk. и *Solanum juzepczukii* Buk. (Sukhotu et al., 2004; Hosaka, Sanetomo, 2009). Типом А хлДНК обладает большинство образцов тетраплоидного андийского культурного вида *Solanum andigenum* Juz. et Buk., большинство образцов триплоидного культурного вида *Solanum chaucha* Juz. et Buk. и около четверти изученных образцов диплоидных культурных видов (Hosaka, Hanneman, 1988b; Hosaka, 1995; Sukhotu et al., 2004; 2005; 2006; Hosaka, Sanetomo, 2009; 2012). Дикий тип W хлДНК выявлен у большинства изученных образцов близкородственных предковых диких видов из *Solanum brevicaulis* Bitter complex и единичных образцов культурных видов (Hosaka, 1995; Sukhotu et al., 2004; 2006; Hosaka, Sanetomo, 2009; 2012).

Все пять типов хлДНК выявлены у наиболее полиморфного культурного вида *S. andigenum*, представленного андийскими тетраплоидными аборигенными сортами, которые возделываются местным населением на обширных территориях Южной Америки. Таксономическое разнообразие *S. andigenum* включает один подвид, 21 разновидность и 43 формы согласно С.М. Букасову (Bukasov, 1930; 1933), или шесть подвидов и 15 разновидностей согласно В.С. Лехновичу (Lekhnovich, 1983).

Типовые образцы культурных видов картофеля, выделенные С.В. Юзепчуком и С.М. Букасовым в конце 1920-х годов (Juzepczuk, Bukasov, 1929), включают: 17 голотипов, два изотипа, 45 лектотипов, семь изолектотипов, 18 синтипов и один изосинтип (Korovina et al., 1985; Ovchinnikova et al., 2011; Chukhina et al., 2016; 2017; Oskina et al., 2023). Этот аутентичный материал представляет несомненный интерес для молекулярно-генетических исследований. При этом следует учитывать, что существует ряд методических ограничений, обусловленных различной степенью фрагментации ДНК растений, длительное время сохраняемых в гербарных коллекциях, в том числе, проблематичность амплификации крупных фрагментов ДНК размером более 600 пн; оптимальным

размером при работе с ДНК, выделенной из старого гербарного материала, можно считать фрагменты до 300 пн (Hughey, Gabrielson, 2012; Särkinen et al., 2012; Dabney et al., 2013; Krinitsina et al., 2015; Fomina et al., 2019; Papalini et al., 2023).

Все праймеры из набора Hosaka и Sanetomo (Hosaka, Sanetomo, 2012), определяющие разные типы пластидной ДНК, за исключением праймеров для детекции А-типа, позволяют амплифицировать фрагменты небольших размеров (от 127 пн до 443 пн) (см. табл. 1), поэтому их возможно использовать для изучения длительно хранящихся гербарных образцов, ДНК которых может быть сильно деградирована. Так, например, с использованием маркера H1 (диагностический фрагмент 202 пн) Т-тип хлДНК был определен у образцов европейских сортов картофеля, заложенных в гербарий с 1700 по 1910 год (Ames, Spooner, 2008), и у аутентичных гербарных образцов чилийского картофеля, собранных в Чили в 1928 году (Gavrilenko et al., 2023). Сопоставление результатов анализа полиморфизма в различных локусах хлДНК у образцов чилийского картофеля, собранных около 100 лет назад, с более поздними сборами позволило изучить процессы генетической эрозии (Gavrilenko et al., 2023).

Использование праймеров А, генерирующих ампликон размером 1178 пн, для выявления А-типа хлДНК среди старых (возрастом ~100 лет) гербарных образцов культурных видов картофеля проблематично, что было показано нами ранее (Gavrilenko et al., 2023). Возможным подходом к решению данной проблемы является разработка новых праймеров, образующих более короткие ампликоны, что и было осуществлено в настоящей работе.

## Материалы и методы

**Материал для исследований:** а) выборка старых гербарных образцов культурных видов картофеля возрастом ~100 лет, включающая 24 аутентичных образца из гербария ВИР (WIR), заложенных на хранение в 1928-1931 годах; б) выборка аналогичного таксономического состава, включающая 22 живых образца, собранных в Южной Америке во второй половине XX века, сохраняемых в *in vitro* коллекции ВИР (табл. 2).

Для детекции разных типов хлДНК в качестве контроля были использованы сорта картофеля из *in vitro* коллекции ВИР, у которых ранее были определены различные типы пластидной ДНК: 'Аляска' и 'Легенда', имеющие W- и Т-типы хлДНК, соответственно (Lihodeevskiy, Shanina, 2022; Oskina et al., 2023); сорт 'Катюша', обладающий А-типом хлДНК (Sanetomo, Gebhardt, 2015; Gavrilenko et al., 2019), был представлен двумя образцами – живым из *in vitro* коллекции ВИР и 58-летним из Гербария ВИР (см. табл. 2).

Таблица 2. Растительный материал для исследования

Table 2. The studied plant material

Вид*/ Species*	Число образцов/ Number of accessions	Номер образца/ Accession number
<b>Образцы культурных видов картофеля из гербарной коллекции ВИР – 25 образцов (в скобках указан номер гербарного листа в гербарии ВИР) / Cultivated potato species from the herbarium collection of VIR – 25 accessions (the number of the herbarium sheet in the VIR herbarium is given in parentheses)</b>		
<i>Solanum andigenum</i> Juz. et Buk.	18	44 (WIR-38416д), 84 (WIR-38381д), 191с (WIR-38955), 1009а (WIR-37494(69794)), 1227 (WIR-37143), 1253 (WIR-37157), 1256 (WIR-37027), 1260 (WIR-37369), 1306 (WIR-37559), 1468а (WIR-37056), 1522b (WIR-70774), 1525 (WIR-без номера), 1526 (WIR-38661), 1536 (WIR-без номера), 1640 (WIR-1434), 1656 (WIR-1423), 1659 (WIR-1426), 1663b (WIR-1419)
<i>S. chaucha</i> Juz. et Buk.	2	1783 (WIR-без номера), 1858а (WIR-70815)
<i>S. stenotomum</i> Juz. et Buk.	4	1319 (WIR-70797), 1681 (WIR-1552), 1743 (WIR-1551), 1556b (WIR-70732)
<i>S. tuberosum</i> L. (сорт/ cultivar)	1	‘Катюша’ (WIR-21944)
<b>Образцы из <i>in vitro</i> коллекции ВИР (25 образцов) / Accessions from the VIR <i>in vitro</i> collection (25 accessions)</b>		
<i>S. andigenum</i>	14	VIR 1690, VIR 1714, VIR 1764, VIR 1771, VIR 1775, VIR 1796, VIR 3041, VIR 3172, VIR 3231, VIR 3240, VIR 4793, VIR 5606, VIR 8201, VIR 8931
<i>S. chaucha</i>	4	VIR 24674, VIR 24676, VIR 24677, VIR 24684
<i>S. stenotomum</i>	4	VIR 3558, VIR 8890, VIR 8903, VIR 16911
<i>S. tuberosum</i> Контрольные образцы (сорта/ cultivars)	3	‘Аляска’ (и-641838), ‘Катюша’ (и-643498), ‘Легенда’ (и-641840)**

\* – название вида указано согласно системе, разработанной С.В. Юзепчуком и С.М. Букасовым (Juzepczuk, Bukasov, 1929)/ the name of the species is indicated according to the system developed by S.V. Juzepchuk and S.M. Bukasov (Juzepczuk, Bukasov, 1929).

\*\*В скобках указаны номера интродукции (и-) для образцов из коллекции *in vitro* ВИР/ The introduction numbers (и-) for accessions from the *in vitro* collection of VIR are given in parentheses.

**Выделение и очистка ДНК** из гербарного материала была проведена на колонках при помощи готового набора для выделения геномной ДНК из растительных образцов DNEasy Plant Mini Kit (Qiagen, Germany). Выделение ДНК из свежей растительной ткани *in vitro* растений проводили модифицированным методом СТАВ-экстракции (Gavrilenko et al., 2013).

**Праймеры разработаны** при помощи компьютерной программы Primer3Plus (Untergasser et al., 2007) и дополнительно проверены на отсутствие внутренних шпилек и самоотжига при помощи инструмента OligoAnalyzer™ Tool, доступного на онлайн-платформе Integrated DNA Technologies (IDT, 2025).

**ПЦР проводили** в реакционной смеси объемом 20 мкл, содержащей 40 нг геномной ДНК картофеля, 1× реакционный буфер, 2,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,5 мМ каждого из dNTP's, 0,5 мкМ прямого и обратного праймеров и 1 ед. Taq-полимеразы. Последовательности праймеров и температуры отжига приведены в таблице 3. Условия ПЦР в целом соответствовали указанным в литературе. Для

обеспечения большей специфичности все программы содержали функцию Touchdown: в первом цикле температура отжига была на 5°C выше требуемой и на протяжении 5 циклов понижалась на 1°C/цикл. Для пары праймеров A494 была использована следующая программа: 3 мин – 94°C, 8 циклов [45 с – 94°C, 1 мин – 51°C с понижением на 0,5°C/цикл, 1 мин – 72°C], 30 циклов [45 с – 94°C, 45 с. – 47°C, 1 мин – 72°C], 5 мин – 72°C.

**Рестрикция.** ПЦР-продукты, полученные при использовании праймеров SAC, A, A22 и A494, обрабатывали рестриктазой BamHI («СибЭнзим», Россия) в течение 12 часов согласно инструкции производителя.

**Электрофорез** проводили в 2% агарозном геле с использованием буфера TBE с окраской бромистым этидием и визуализацией в проходящем УФ свете.

**Статистическая обработка данных** проведена на основе анализа таблиц сопряженности с использованием критерия хи-квадрат ( $\chi^2$ ).

## Результаты и обсуждение

Для разработки праймеров мы использовали последовательность пластидного генома *S. tuberosum* сорта 'Desiree', депонированную в международном генном банке GenBank NCBI: DQ231562.1 (GenBank, 2024), в которой определили сайты отжига праймеров А, рекомендованных К. Hosaka и R. Sanetomo (Hosaka, Sanetomo, 2012). Во фланкированном этими праймерами участке идентифицировали сайт GGATCG, в котором замена G-C, харак-

терная для хлДНК А-типа, образовала рестрикционный сайт GGATCC, опознающийся рестриктазой BamHI. Было подобрано несколько пар праймеров, специфичных для последовательностей вокруг этого сайта, из которых наилучшим вариантом были признаны праймеры А494 (рис. 1). Кроме относительно небольшого размера ПЦР-продукта (499 пн), преимуществом этих праймеров является наличие в ампликоне еще одного дополнительного BamHI-сайта (см. рис. 1), что позволяет проводить контроль успешности работы рестриктазы.

```
aactttttgaactctattccttaattgagtatagaagtatagaacggtttagttacaagagttg
aattcgaggaaagtataaaatataggaaagtcccagggttaataaaaaaactaagactctaaa
ctcaaatacaaaaataatgaaccttcaacctcaaattcctatttgaacaactttttattgttatt
gatccatttgaatcattactaaactaaaatagcttactcaatctcgacgattgcttattcatag
gctattatgagttcaagacaagccgctatggtgaaattggtagacacgctgctcttaggaagca
gtgctaattgcatctcggttcgagtcagggtggcggcatagcatcttctaaaaaggataaataga
tcttataatgaattcaattcccgaatttccatttttagaattatgtaattaagggactcttctttt
ttaagattttttatgatatttttcaaccttagagcatatattaactcacatttcccttttcgatcg
tttcaattgtaattacaattcattttgataaccttttttagtcgatgaaattgtaaaactatacga
ttcgtcagaaaagggcataatagttacttttttctgtataacaggattattagttactcgttgg
atttcttcaggacatttcccactaagcgatttatatgaatcattaatttttccctttcatggagtt
tctcccttattcatataattccataatttcaaaaaaatgttttaattttaagtaaaataactgg
accaagtgctattttgacccaaggctttgctacttcagggtatttttaactgaaatacaccaatct
ggaatatattagtaacctgctcttcaatctgagtggttaataatgcacgtaagtatgatgatattgg
gctatgcagcccttttatgtGGATCGttattatcagtagcacttctagtgtattacatttcgaaa
aaacagaaagcttttttataagagcaatgggttttttaaacgagtcatttttcttggtgaaaat
gttgctgaaaataacttcgtttttttgtgctaaaaattattacagggtcccaattgattcaacaat
tggtattattggagttatcgggttattagtttaggattttacttttttaaccataggaatcctttc
gggagcgggatgggctaataagagcgtgggggtcctattggaattgGGATCCaaaagaaacttgg
gcatttattacttggatcgtattttgcaattttattacatactcgaacaaatagaaatttgcggg
gtccaaattctgcaattgtagcgtctatagggttttctttataatttggatatgctattttggggt
caatctatttaggaatagggttacatagttatggttcttttccatcaacatttaattgaattcaa
gacaagttattacaaatacaagagcgggagcgcattgtatgaaccagcatgacggaccgtgtga
atcaaatattgtattgatgttcatcacgg
```

**Рис. 1. Фрагмент последовательности хлДНК DQ231562.1 сорта 'Desiree' с указанием положения А-праймеров, рекомендованных К. Hosaka и R. Sanetomo (по Hosaka, Sanetomo, 2012) и праймеров А494, разработанных в настоящем исследовании**

Последовательности А-праймеров (Hosaka, Sanetomo, 2012) выделены зеленым цветом; последовательности праймеров А494 – желтым. Последовательности праймеров А22 на этом рисунке не выделены, но приведены в Gavrilenko et al., 2023. Сайт рестрикции GGATCG, где выявлена замена, обозначен полужирным курсивом красным цветом, дополнительный сайт рестрикции GGATCC обозначен полужирным курсивом синим цветом. Размер диагностического фрагмента у образцов с А-типом хлДНК составляет 313 пн, в случае остальных типов пластидной ДНК – 403 пн.

**Fig. 1. The fragment of cpDNA sequence DQ231562.1 of cv. 'Desiree' with A-primers recommended by K. Hosaka и R. Sanetomo (according to Hosaka, Sanetomo, 2012) and positions of the A494 primers designed in this study**

The sequences of A-primers (Hosaka, Sanetomo, 2012) are highlighted in green; those of A494 primers are highlighted in yellow. The sequences of A22-primers are not highlighted, but are given in Gavrilenko et al., 2023. The GGATCG restriction site where the substitution was revealed is shown in bold italics in red, the additional restriction site GGATCC is shown in bold italics in blue. The size of the diagnostic fragment for A-type is 313 bp, for all other types – 403 bp



Для детекции А-типа пластидной ДНК мы использовали три пары праймеров: праймеры А из набора К. Hosaka и R. Sanetomo (Hosaka, Sanetomo, 2012), разработанные нами ранее праймеры А22 (Gavrilenko et al., 2023), а также подобранная в данном исследовании пара

праймеров А494, которая была апробирована на двух выборках одинакового таксономического состава, включавших старые гербарные образцы и образцы из *in vitro* коллекции. Результаты представлены в таблицах 4 и 5.

**Таблица 4. Типы хлДНК у образцов культурных видов картофеля из *in vitro* коллекции ВИР, установленные с использованием праймеров из набора К. Hosaka и R. Sanetomo (Hosaka, Sanetomo, 2012), и праймеров А22, А494, разработанных нами для определения А-типа хлДНК**

**Table 4. Types of cpDNA in accessions of cultivated potato species from the VIR *in vitro* collection, determined using primers from the K. Hosaka, R. Sanetomo set (Hosaka, Sanetomo, 2012), and primers A22, A494 developed by us for determining the A-type of cpDNA**

	Вид/ Species	Номер образца/ Accession number	Маркер/ Marker						Тип хлДНК/ Type of cpDNA
			H1	S	SAC/ BamHI	A/ BamHI	A22/ BamHI	A494/ BamHI	
1	<i>Solanum andigenum</i> Juz. et Buk.	VIR 1690	0	0	0	+	+	+	A
2	"	VIR 1714	0	0	0	+	+	+	A
3	"	VIR 1764	0	0	0	+	+	+	A
4	"	VIR 1771	0	0	0	+	+	+	A
5	"	VIR 1775	0	0	0	+	+	+	A
6	"	VIR 1796	0	0	0	+	+	+	A
7	"	VIR 3041	0	0	0	+	+	+	A
8	"	VIR 3172	0	0	0	+	+	+	A
9	"	VIR 3231	+	0	+	0	0	0	T
10	"	VIR 3240	0	0	0	+	+	+	A
11	"	VIR 4793	0	0	0	+	+	+	A
12	"	VIR 5606	0	0	0	+	+	+	A
13	"	VIR 8201	0	0	0	+	+	+	A
14	"	VIR 8931	+	0	+	0	0	0	T
15	<i>S. chaucha</i> Juz. et Buk.	VIR 24674	0	0	0	+	+	+	A
16	"	VIR 24676	0	0	0	+	+	+	A
17	"	VIR 24677	0	0	0	+	+	+	A
18	"	VIR 24684	0	0	0	+	+	+	A
19	<i>S. stenotomum</i> Juz. et Buk.	VIR 3558	0	0	0	+	+	+	A
20	"	VIR 8890	0	0	0	+	+	+	A
21	"	VIR 8903	0	0	0	+	+	+	A
22	"	VIR 16911	0	0	0	+	+	+	A
Контрольные образцы/ Control accessions									
23	<i>S. tuberosum</i> L. (сорта/ cultivars)	‘Аляска’	0	0	+	0	0	0	W
24	"	‘Катюша’	0	0	0	+	+	+	A
25	"	‘Легенда’	+	0	+	0	0	0	T

“+” – наличие диагностического фрагмента; “0” – отсутствие диагностического фрагмента

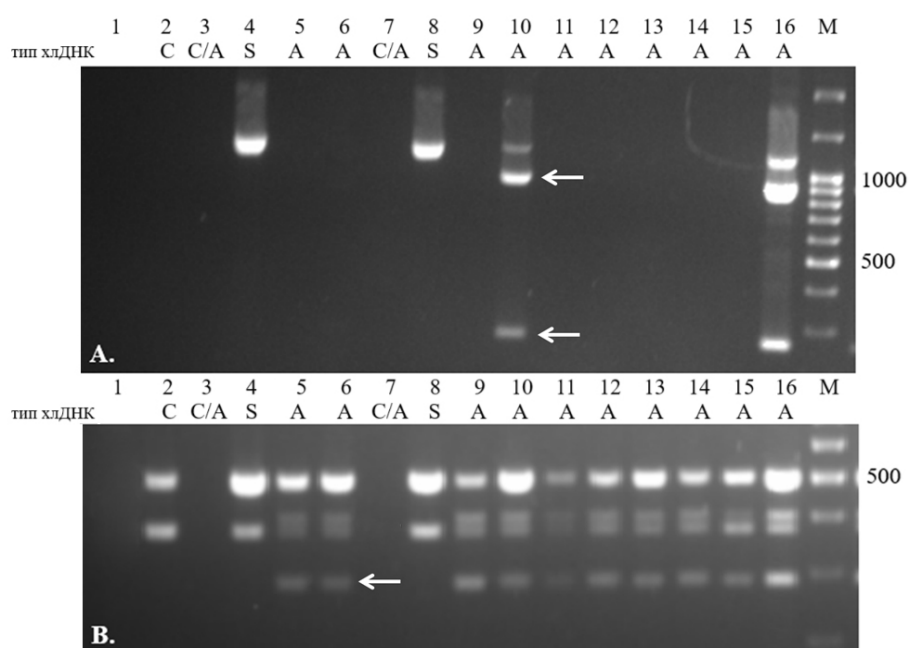
Как и ожидалось, для образцов растений из *in vitro* коллекции трудностей с амплификацией не возникло – у контрольных сортов были подтверждены уста-

новленные ранее типы хлДНК: Т – у сорта ‘Легенда’, W – ‘Аляска’ и А – у сорта ‘Катюша’ (см. табл. 4). Среди 14 образцов *S. andigenum* выявлены два образца

с Т-типом. У оставшихся 12 образцов *S. andigenum*, как и у всех проанализированных в данной работе образцов *S. chaucha* и *S. stenotomum* идентифицирован А-тип хлДНК (см. табл. 4). Таким образом, на 21 живом образце показано полное 100% совпадение результатов определения А-типа хлДНК с использованием всех трех пар праймеров.

Сложности с получением ампликонов с парой праймеров А из набора Hosaka, Sanetomo (Hosaka, Sanetomo, 2012), генерирующей ампликон размером 1178 пн, возникли при использовании препаратов ДНК, выделенных из старых (возрастом ~100 лет) гербарных образцов. В этом случае результаты амплификации были получе-

ны только для пяти (20%) образцов из 25 изученных (рис. 2А). С парой праймеров А22 ампликоны размером 805 пн были получены только для девяти (36%) образцов, тогда как при использовании новой пары праймеров А494 фрагменты размером 494 пн были получены для 22 (88%) из 25 изученных образцов (рис. 2В; см. табл. 5). При сравнении результативности амплификации с праймерами А и А22 статистически значимых различий не выявлено ( $p=0,208$ ). В то же время, результативность использования праймеров А494 была достоверно выше ( $p<0,001$ ), как в сравнении с результатами, полученными с праймерами А, так и с праймерами А22.



**Рис. 2. Определение типов хлДНК у старых (возрастом ~100 лет) гербарных образцов андийских видов картофеля**

Использованы следующие маркеры: (А.) маркер A/BamHI; (В.) маркер (A494/BamHI) 1 – вода (отрицательный контроль);

- 2 – *S. andigenum* 1663b (WIR-1419); 3 – *S. andigenum* 1656 (WIR-1423); 4 – *S. andigenum* 1640 (WIR-1434);  
5 – *S. andigenum* 1659 (WIR-1426); 6 – *S. andigenum* 1009a (WIR-37494 (69794)); 7 – *S. andigenum* 191c (WIR-38955);  
8 – *S. stenotomum* 1319 (WIR-70797); 9 – *S. stenotomum* 1681 (WIR-1552); 10 – *S. stenotomum* 1743 (WIR-1551);  
11 – *S. andigenum* 1227 (WIR-37143); 12 – *S. andigenum* 1253 (WIR-37157); 13 – *S. andigenum* 1256 (WIR-37027);  
14 – *S. andigenum* 1260 (WIR-37369); 15 – *S. chaucha* 1858a (WIR-70815); 16 – сорт 'Катюша' (WIR-21944);  
M – маркер молекулярного веса. Стрелкой указаны диагностические фрагменты А-типа хлДНК.

**Fig 2. Detection of cpDNA types in the old (~ 100 years old) herbarium specimens of Andean cultivated potato species**

The following markers were used: (A.) A/BamHI; (B.) A494/BamHI

- 1 – water (negative control); 2 – *S. andigenum* 1663b (WIR-1419); 3 – *S. andigenum* 1656 (WIR-1423); 4 – *S. andigenum* 1640 (WIR-1434);  
5 – *S. andigenum* 1659 (WIR-1426); 6 – *S. andigenum* 1009a (WIR-37494 (69794)); 7 – *S. andigenum* 191c (WIR-38955);  
8 – *S. stenotomum* 1319 (WIR-70797); 9 – *S. stenotomum* 1681 (WIR-1552); 10 – *S. stenotomum* 1743 (WIR-1551);  
11 – *S. andigenum* 1227 (WIR-37143); 12 – *S. andigenum* 1253 (WIR-37157); 13 – *S. andigenum* 1256 (WIR-37027);  
14 – *S. andigenum* 1260 (WIR-37369); 15 – *S. chaucha* 1858a (WIR-70815); 16 – cultivar 'Katyusha' (WIR-21944);  
M – molecular weight standard. The arrow indicates diagnostic fragments of A-type cpDNA

Среди образцов культурного вида *S. andigenum*, длительно хранящихся в гербарии, большая часть (13 из 18) имели А-тип хлДНК, у одного – выявлен S-тип и у одного образца установлен С-тип пластидной ДНК. Один

образец *S. stenotomum* обладал S-типом, оставшиеся три образца имели А-тип хлДНК. У двух изученных образцов *S. chaucha* установлен А-тип хлДНК (см. табл. 5).

Таблица 5. Типы хлДНК у старых (возрастом ~100 лет) гербарных образцов культурных видов картофеля  
Table 5. cpDNA types in the old (~100 years old) herbarium specimens of cultivated potato species

	Вид/ Species	Номер образца/ Specimen number	Номер гербарного листа/ Herbarium number	Год гербаризации/ Year of herbarization	Маркер/ Marker						Тип хлДНК/ Type of cpDNA
					H1	S	SAC/ BamHI	A/ BamHI	A22/ BamHI	A494/ BamHI	
1	<i>S. andigenum</i> Juz. et Buk.	44	WIR-38416д	1930	0	0	0	н/а	н/а	+	A
2	"	84	WIR-38381д	1928	0	0	0	н/а	н/а	н/а	A или C
3	"	191с	WIR-38955	1929	0	0	0	н/а	н/а	н/а	A или C
4	"	1009а	WIR-37494 (69794)	1931	0	0	0	н/а	н/а	+	A
5	"	1227	WIR-37143	1931	0	0	0	н/а	н/а	+	A
6	"	1253	WIR-37157	1929	0	0	0	н/а	н/а	+	A
7	"	1256	WIR-37027	1929	0	0	0	н/а	н/а	+	A
8	"	1260	WIR-37369	1929	0	0	0	н/а	+	+	A
9	"	1306	WIR-37559	1931	0	0	0	н/а	н/а	+	A
10	"	1468а	WIR-37056	1929	0	0	0	+	+	+	A
11	"	1522b	WIR-70774	1929	0	0	0	н/а	н/а	+	A
12	"	1525	–	1929	0	0	0	н/а	н/а	+	A
13	"	1526	WIR-38661	1929	0	0	0	н/а	н/а	+	A
14	"	1536	–	1929	0	0	0	н/а	н/а	+	A
15	"	1640	WIR-1434	1929	0	+	0	н/а	н/а	0	S
16	"	1656	WIR-1423	1929	0	0	0	н/а	н/а	н/а	A или C
17	"	1659	WIR-1426	1929	0	0	0	н/а	н/а	+	A
18	"	1663b	WIR-1419	1929	0	0	0	н/а	0	0	C
19	<i>S. stenotomum</i> Juz. et Buk.	1319	WIR-70797	1929	0	+	0	0	0	0	S
20	"	1556b	WIR-70732	1929	0	0	0	+	+	+	A
21	"	1681	WIR-1552	1929	0	0	0	н/а	н/а	+	A
22	"	1743	WIR-1551	1929	0	0	0	+	+	+	A
23	<i>S. chaucha</i> Juz. et Buk.	1783	–	1928	0	0	0	н/а	+	+	A
24	"	1858а	WIR-70815	1929	0	0	0	н/а	+	+	A
Контрольный образец с A-типом хлДНК/ Control accession with A-type cpDNA											
25	Сорт/ Cultivar	'Катюша'	WIR-21944	1967	0	0	0	+	+	+	A
Число образцов в выборке из 25 образцов, у которых были выявлены диагностические фрагменты A-типа хлДНК/ The number of samples in the 25-sample set in which diagnostic fragments of type A cpDNA were detected					–	–	–	5/25	9/25	22/25	

«+» – наличие диагностического фрагмента; «0» – отсутствие диагностического фрагмента; н/а – нет амплификации с праймерами, детектирующими A-тип хлДНК. Серый фон акцентирует неоднозначность идентификации у трех гербарных образцов; «+» – presence of a diagnostic fragment; «0» – absence of a diagnostic fragment; н/а – no amplification with primers detecting A-type cpDNA. The grey background emphasizes the ambiguity of identification in three herbarium specimens.

Для трех гербарных образцов *S. andigenum* установить тип хлДНК так и не удалось, так как для них не были получены диагностические фрагменты ни с одним из использованных маркеров А-типа хлДНК (А, А22, А494). В данном случае мы уверены, что эти образцы не имеют ни Т-, ни S-типа, поскольку полученные с праймерами Н1 и NTCP6 ампликоны не имели соответствующих делеций 241 пн и 48 пн; кроме того, ампликон, полученный с использованием праймеров SAC, не расщепился рестриктазой BamHI (см. табл. 1); следовательно, у этих образцов может быть или А, или С тип хлДНК (на рисунке 2 обозначены как С/А).

В результате разработки пары праймеров А494, дополняющих набор ПЦР-маркеров К. Hosaka и R. Sanetomo для идентификации разных типов хлДНК культурных видов картофеля (Hosaka, Sanetomo, 2012), появилась возможность привлечения в молекулярно-генетические исследования широких выборок исторических гербарных образцов.

### Заключение

Продемонстрирована возможность идентификации А-типа пластидной ДНК у исторических образцов культурных видов картофеля, хранящихся ~100 лет в Гербарии культурных растений мира, их диких родичей и сорных растений (WIR). С использованием новых праймеров А494 диагностические фрагменты ожидаемого размера были получены у 88% изученных гербарных образцов андийских культурных видов. Планируются дальнейшие исследования обширных выборок исторических гербарных образцов картофеля с использованием дополненного набора ПЦР маркеров, детектирующих различные типы хлДНК.

### References/Литература

- Ames M., Spooner D.M. DNA from herbarium specimens settles a controversy about origins of the European potato. *American Journal of Botany*. 2008;95(2):252-257. DOI: 10.3732/ajb.95.2.252
- Bryan G.J., McNicoll J., Ramsay G., Meyer R.C., De Jong W.S. Polymorphic simple sequence repeat markers in chloroplast genomes of Solanaceous plants. *Theoretical and Applied Genetics*. 1999;99:859-867. DOI: 10.1007/s001220051306
- Bukarov S.M. The cultivated plants of Mexico, Guatemala and Colombia. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Plant Breeding*. 1930; Suppl. 47:1-307. [in Russian] (Букасов С.М. Возделываемые растения Мексики, Гватемалы и Колумбии. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 1930; Приложение 47:1-307).
- Bukarov S.M. The potatoes of South America and their breeding possibilities. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Plant Breeding*. 1933; Suppl. 58:1-192. [in Russian] (Букасов С.М. Картофели Южной Америки и их селекционное использование. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 1933; Приложение 58:1-192).
- Chukhina I.G., Dorofeyev V.I., Gavrilenko T.A., Krylova E.A., Ovchinnikova A.B. Type specimens of *Solanum* genus section *Petota* Dumort. (Solanaceae) taxa in the N.I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (WIR) and the V.L. Komarov Botanical Institute (LE): new findings and updates. *Turczaninowia*. 2017;20(2):97-105. [in Russian] (Чухина И.Г., Дорофеев В.И., Гавриленко Т.А., Крылова Е.А., Овчинникова А.Б. Типовые материалы таксонов секции *Petota* Dumort. рода *Solanum* (Solanaceae) Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР, WIR) и Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (БИИ РАН, LE): новые находки и уточнения. *Turczaninowia*. 2017;20(2):97-105). DOI: 10.14258/turczaninowia.20.2.8
- Chukhina I.G., Gavrilenko T.A., Smekalova T.N. Catalogue of the VIR global collection. Issue 833. Nomenclatural types stored in the VIR herbarium: genus *Solanum* L. (family Solanaceae Juss.) St. Petersburg: VIR; 2016. [in Russian] (Чухина И.Г., Гавриленко Т.А., Смекалова Т.Н. Каталог мировой коллекции ВИР. Выпуск 833. Номенклатурные типы, хранящиеся в гербарии ВИР: род *Solanum* L. (сем. Solanaceae Juss.). Санкт-Петербург: ВИР; 2016).
- Dabney J., Meyer M., Pääbo S. Ancient DNA damage. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2013;5(7):a012567. DOI: 10.1101/cshperspect.a012567
- Fomina N.A., Antonova O.Y., Chukhina I.G., Gavrilenko T.A. Herbarium collections in molecular genetic studies. *Turczaninowia*. 2019;22(4):104-118. [in Russian] (Фомина Н.А., Антонова О.Ю., Чухина И.Г., Гавриленко Т.А. Гербарные коллекции в молекулярно-генетических исследованиях. *Turczaninowia*. 2019; 22(4):104-118). DOI: 10.14258/turczaninowia.22.4.12
- Gavrilenko T., Chukhina I., Antonova O., Krylova E., Shipilina L., Oskina N., Kostina L. Comparative analysis of the genetic diversity of Chilean cultivated potato based on a molecular study of authentic herbarium specimens and present-day gene bank accessions. *Plants*. 2023;12(1):174. DOI: 10.3390/plants12010174
- Gavrilenko T.A., Antonova O.Yu., Shuvalova A.R., Krylova E.A., Alpatyeva N.V., Spooner D.M., Novikova L.Yu. Genetic diversity and origin of cultivated potatoes based on plastid microsatellite polymorphism. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2013;60(7):1997-2015. DOI: 10.1007/s10722013-9968-1
- Gavrilenko T.A., Klimenko N.S., Alpatyeva N.V., Kostina L.I., Lebedeva V.A., Evdokimova Z.Z., Apalikova O.V., Novikova L.Y., Antonova O.Yu. Cytoplasmic genetic diversity of potato varieties bred in Russia and FSU countries. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(6):753-764. DOI: 10.18699/VJ19.534
- GeneBank NCBI, National Center for Biotechnology Information; 2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/> [accessed Dec. 3, 2024]
- Hosaka K. Who is the mother of the potato? – restriction endonuclease analysis of chloroplast DNA of cultivated potatoes. *Theoretical and Applied Genetics*. 1986;72(5):606-618. DOI: 10.1007/BF00288998.
- Hosaka K. Successive domestication and evolution of the Andean potatoes as revealed by chloroplast DNA restriction endonuclease analysis. *Theoretical and applied genetics*. 1995;90(3-4):356-363. DOI: 10.1007/BF00221977
- Hosaka K. Distribution of the 241 bp deletion of chloroplast DNA in wild potato species. *American Journal of Potato Research*. 2002;79:119-123. DOI: 10.1007/BF02881520
- Hosaka K. T-type chloroplast DNA in *Solanum tuberosum* L. ssp. *tuberosum* was conferred from some populations of *S. tarijense* Hawkes. *American Journal of Potato Research*. 2003;80:21-32. DOI: 10.1007/BF02854553
- Hosaka K. Evolutionary pathway of T-type Chloroplast DNA in potato. *American Journal of Potato Research*. 2004;81:153-158. DOI: 10.1007/BF02853613
- Hosaka K., Hanneman R.E. The origin of the cultivated tetraploid potato based on chloroplast DNA. *Theoretical and applied genetics*. 1988a;76(2):172-176. DOI: 10.1007/BF00257842
- Hosaka K., Hanneman R.E. Origin of chloroplast DNA diversity in the Andean potatoes. *Theoretical and applied genetics*. 1988b;76(3):333-340. DOI: 10.1007/BF00265332
- Hosaka K., Sanetomo R. Comparative differentiation in mitochondrial and chloroplast DNA among cultivated potatoes and closely related wild species. *Genes and genetic systems*. 2009;84(5):371-378. DOI: 10.1266/ggs.84.371
- Hosaka K., Sanetomo R. Development of a rapid identification



- method for potato cytoplasm and its use for evaluating Japanese collections. *Theoretical and applied genetics*. 2012;125:1237-1251. DOI: 10.1007/s00122-012-1909-4
- Hosaka K., Ogiwara Y., Matsubayashi M., Tsunewaki K. Phylogenetic relationship between the tuberous *Solanum* species as revealed by restriction endonuclease analysis of chloroplast DNA. *The Japanese Journal of Genetics*. 1984;59:349-369. DOI: 10.1266/jjg.59.349
- Hosaka K., Zoeten G.A., Hanneman R.E. Cultivated potato chloroplast DNA differs from the wild type by one deletion – evidence and implications. *Theoretical and Applied Genetics*. 1988;75:741-745.
- Hughey J.R., Gabrielson P.W. Comment on “Acquiring DNA sequence data from dried archival red algae (Florideophyceae) for the purpose of applying available names to contemporary genetic species: a critical assessment”. *Botany*. 2012;90(12):1191-1194. DOI: 10.1139/b2012-102
- IDT, Integrated DNA Technologies; 2025 [website]. Available from: <https://eu.idtdna.com/calculator/sequence-analyzer> [accessed Aug. 23, 2025]
- Juzepczuk S.W., Bukasov S.M. A contribution to the question of the origin of the potato. In: *Proceedings of the USSR Congress of Genetics, Plant- and Animal-Breeding; 1929 January 10-16*. Leningrad; 1929. Vol. 3. p.593-611. [in Russian] (Юзефчук С.В., Букасов С.М. К вопросу о происхождении картофеля. В кн.: *Труды Всесоюзного съезда по генетике, селекции, семеноводству и племенному животноводству; 10-16 января 1929*. Ленинград; 1929. Т. 3. С.593-611).
- Korovina O.N., Belozor N.I., Chernomorskaya N.M. (comp.). Catalogue of the VIR global collection. Issue 327, Part 2. Catalogue of the types of plant taxa preserved at the VIR Herbarium (Catalogus typorum taxorum plantarum in Herbario VIR conservatorium). O.N. Korovina (ed.). Leningrad: VIR; 1985. [in Russian] (Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 327, ч. 2. Каталог типов таксонов растений, хранящихся в гербарии ВИР/ сост. О.Н. Коровина, Н.И. Белозор, Н.М. Черноморская; под ред. О.Н. Коровиной. Ленинград: ВИР; 1985).
- Krinitsina A.A., Sizova T.V., Zaika M.A., Speranskaya A.S., Sukhorukov A.P. A rapid and cost-effective method for DNA extraction from archival herbarium specimens. *Biochemistry Moscow*. 2015;80:1478-1484. DOI: 10.1134/S0006297915110097
- Lekhnovich V.S. New taxons within the species *Solanum andigenum* Juz. et Buk. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 1983;79:45-49. [in Russian] (Лехнович В.С. Новые таксоны внутри вида *Solanum andigenum* Juz. et Buk. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 1983;79:45-49).
- Lihodeevskiy G.A., Shanina E.P. The use of long-read sequencing to study the phylogenetic diversity of the potato varieties plastome of the Ural selection. *Agronomy*. 2022;12:846. DOI: 10.3390/agronomy12040846
- Oskina N.A., Gavrilenko T.A., Chukhina I.G. Typification of intraspecific taxa in *Solanum andigenum* Juz. et Buk. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2023;184(4):163-173. [in Russian] (Оськина Н.А., Гавриленко Т.А., Чукина И.Г. Типификация внутривидовых таксонов *Solanum andigenum* Juz. et Buk. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2023;184(4):163-173). DOI: 10.30901/2227-8834-2023-4-163-173
- Ovchinnikova A., Krylova E., Gavrilenko T., Smekalova T., Zhuk M., Knapp S., Spooner D. Taxonomy of cultivated potatoes (*Solanum* section *Petota*: Solanaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2011;165(2):107-155. DOI: 10.1111/j.1095-8339.2010.01107.x
- Papalini S., Di Vittori V., Pieri A., Allegranza M., Frascarelli G., Nanni L., Bitocchi E., Bellucci E., Gioia T., Pereira L.G., Susek K., Tenaillon M., Neumann K., Papa R. Challenges and opportunities behind the use of herbaria in paleogenomics studies. *Plants*. 2023;12(19):3452. DOI: 10.3390/plants12193452
- Sanetomo R., Gebhardt C. Cytoplasmic genome types of European potatoes and their effects on complex agronomic traits. *BMC Plant Biology*. 2015;15:162. DOI: 10.1186/s12870-015-0545-y
- Särkinen T., Staats M., Richardson J.E., Cowan R.S., Bakker F.T. How to Open the Treasure Chest? Optimising DNA extraction from herbarium specimens. *PLOS ONE*. 2012;7(8):e43808. DOI: 10.1371/journal.pone.0043808
- Spooner D.M., Núñez J., Trujillo G., Del Rosario Herrera M., Guzmán F., Ghislain M. Extensive simple sequence repeat genotyping of potato landraces supports a major reevaluation of their gene pool structure and classification. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 2007;104(49):19398-19403. DOI: 10.1073/pnas.0709796104
- Sukhotu T., Hosaka K. Origin and evolution of Andigena potatoes revealed by chloroplast and nuclear DNA markers. *Genome*. 2006;49(6):636-647. DOI: 10.1139/g06-014
- Sukhotu T., Kamijima O., Hosaka K. Nuclear and chloroplast DNA differentiation in Andean potatoes. *Genome*. 2004;47(1):46-56. DOI: 10.1139/g03-105
- Sukhotu T., Kamijima O., Hosaka K. Genetic diversity of the Andean tetraploid cultivated potato (*Solanum tuberosum* L. subsp. *andigena* Hawkes) evaluated by chloroplast and nuclear DNA markers. *Genome*. 2005;48(1):55-64. DOI: 10.1139/g04-086
- Sukhotu T., Kamijima O., Hosaka K. Chloroplast DNA Variation in the Most Primitive Cultivated Diploid Potato Species *Solanum stenotomum* Juz. et Buk. and its putative wild ancestral species using high-resolution markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2006;53:53-63. DOI: 10.1007/s10722-004-0573-1
- Untergasser A., Nijveen H., Rao X., Bisseling T., Geurts R., Leunissen J.A. Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3. *Nucleic Acids Research*. 2007;35(2):71-74. DOI: 10.1093/nar/gkm306

### Информация об авторах

**Наталья Алексеевна Оськина**, научный сотрудник, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, n.fomina@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4401-4995>

**Ольга Юрьевна Антонова**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующая, лаборатория молекулярной селекции и ДНК-паспортизации, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, olgaant326@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8334-8069>

**Татьяна Андреевна Гавриленко**, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, tatjana9972@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2605-6569>

### Information about the authors

**Natalia A. Oskina**, Researcher, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, n.fomina@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4401-4995>



---

**Olga Yu. Antonova**, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Head, Laboratory of Molecular Breeding and DNA Passportization, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, olgaant326@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8334-8069>

**Tatjana A. Gavrilenko**, Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, tatjana9972@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2605-6569>

**Вклад авторов:**

**Концептуализация** – ТАГ

**Методология, валидация, исследование** – ОЮА, НАО

**Написание черновика – все авторы** – ТАГ, ОЮА, НАО

**Написание** – ТАГ

**Рецензирование – редактирование** – ТАГ

Все авторы прочитали и согласились с данной версией рукописи

**Author contribution:**

**Conceptualization** – TAG

**Methodology, Validation, Investigation** – OYuA, NAO

**Writing of the original draft – all the authors:** TAG, OYuA, NAO

**Writing** – TAG

**Reviewing – Editing** – TAG

All authors have read and approved the current version of the manuscript

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interests:** the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 10.06.2025; одобрена после рецензирования 14.08.2025; принята к публикации 15.09.2025.

The article was submitted on 10.06.2025; approved after reviewing on 14.08.2025; accepted for publication on 15.09.2025.

Научная статья  
УДК 634.711:57.043  
DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-06



## Криоконсервация селекционных сортов рябины из *in vitro* коллекции ВИР

С. Е. Дунаева, О. В. Лисицына, Н. Н. Волкова, Т. А. Гавриленко

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

**Автор, ответственный за переписку:** Татьяна Андреевна Гавриленко, tatjana9972@yandex.ru

**Актуальность.** Перспективной стратегией для долгосрочного хранения видового и сортового генетического разнообразия рябины в контролируемых условиях среды является криоконсервация, позволяющая минимизировать риск генетических изменений у образцов, сохраняемых в жидком азоте. В то же время известно всего лишь несколько работ по криоконсервации единичных образцов рябины. Задачей настоящей работы являлась криоконсервация шести сортов рябины отечественной селекции и передача их на длительное хранение в криобанк ВИР. **Материалы и методы.** Для криоконсервации были использованы образцы сортов рябины из коллекции *in vitro* ВИР: 'Алая крупная', 'Бурка', 'Гранатная', 'Красная крупная', 'Сорбинка' и 'Титан', включая два сорта селекции И.В. Мичурина. Криоконсервацию апексов микрорастений проводили методом дроплет-витрификации, модифицированным в ВИР. **Результаты и обсуждение.** Уровень посткриогенной регенерации шести сортов рябины в контрольных вариантах опытов варьировала от 53% ('Гранатная') до 97% ('Алая крупная'). Длительность культивирования разных образцов в коллекции *in vitro*, которое варьировало от двух до 17 лет, существенно не влияла на уровень их посткриогенной регенерации. В криобанк ВИР на длительное хранение заложены образцы шести сортов рябины в количестве 90 апексов на образец. **Заключение.** Метод дроплет-витрификации, модифицированный в ВИР, показал высокую эффективность при криоконсервации образцов рябины. В криобанк ВИР заложены шесть сортов рябины с посткриогенной регенерацией 53-97%. Планируется дальнейшее увеличение криоколлекции образцов рябины.

**Ключевые слова:** *Sorbus* L., сорта российской селекции, дроплет-витрификация, криоколлекция, криобанк ВИР

**Благодарности:** Работа выполнена в рамках реализации Программы развития Национального центра генетических ресурсов растений по соглашению с Минобрнауки России от 26 февраля 2025 года №075-02-2025-1584

**Для цитирования:** Дунаева С.Е., Лисицына О.В., Волкова Н.Н., Гавриленко Т.А. Криоконсервация селекционных сортов рябины из коллекции *in vitro* ВИР. *Биотехнология и селекция растений*. 2025;8(3):55-64. DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-06

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

© Дунаева С.Е., Лисицына О.В., Волкова Н.Н., Гавриленко Т.А., 2025

Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-o6

## Cryopreservation of bred cultivars of rowan from the VIR *in vitro* collection

Svetlana E. Dunaeva, Olga V. Lisitsyna, Natalia N. Volkova, Tatjana A. Gavrilenko

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

**Corresponding author:** Tatjana A. Gavrilenko, tatjana9972@yandex.ru

**Background.** Cryopreservation is a promising strategy for the long-term preservation of genetic diversity of rowan species and cultivars in controlled environments. It minimizes the risk of genetic changes in accessions stored in liquid nitrogen. However, only a few studies on the cryopreservation of single rowan accessions are known. The objective of our study was the cryopreservation of six rowan cultivars bred in Russia and their transfer to the VIR cryobank for long-term storage. **Materials and methods.** Accessions of six Russian rowan cultivars ('Alaya krupnaya', 'Burka', 'Granatnaya', 'Krasnaya krupnaya', 'Sorbinka' and 'Titan') from the VIR *in vitro* collection, including two cultivars bred by I.V. Michurin, were taken for cryopreservation. The droplet vitrification method modified at VIR was used for cryopreservation of microplant apices. **Results and discussion.** The level of post-cryogenic regeneration in the control variants varied from 53% ('Granatnaya') to 97% ('Alaya krupnaya'). The duration of *in vitro* cultivation of the accessions which varied from two to 17 years did not significantly affect the level of their post-cryogenic regeneration. All six cultivars were transferred to the VIR cryobank for long-term storage in the amount of 90 apices per accession. **Conclusion.** The droplet vitrification method modified at VIR has demonstrated high efficiency for cryopreservation of rowan accessions. Six rowan cultivars were placed in the VIR cryobank with the post-cryogenic regeneration level of 53%-97%. Further increase of the cryocollection of rowan accessions is planned.

**Keywords:** *Sorbus* L., Russian-bred cultivars, droplet vitrification, cryocollection, cryobank

---

**Acknowledgements:** The work was carried out as part of the implementation of the Program of Development of the National Center for Plant Genetic Resources under the Agreement No. 075-02-2025-1584 with the Ministry of Education and Science of Russia dated February 26, 2025

**For citation:** Dunaeva S.E., Lisitsyna O.V., Volkova N.N., Gavrilenko T.A. Cryopreservation of bred cultivars of rowan from the VIR *in vitro* collection. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2025;8(3):55-64. DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-o6

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

---

© Dunaeva S.E., Lisitsyna O.V., Volkova N.N., Gavrilenko T.A., 2025

## Введение

Представители рода *Sorbus* L. распространены в Европе, в большей части Азии, на севере Африки и в Северной Америке; наиболее распространены в умеренной зоне северного полушария (Komarov, 1939; Aldasoro et al., 1998; Vitkovsky, 2003). Центры наибольшего разнообразия видов рода *Sorbus* находятся в Гималаях и на территории западного Китая (Phipps et al., 1990). Род *Sorbus* включает более 250 видов и является одним из наиболее сложных в таксономическом отношении, что обусловлено обширной морфологической изменчивостью и большим внутривидовым разнообразием многих видов, а также частой межвидовой гибридизацией с последующей стабилизацией потомства посредством апомиксиса (Phipps et al., 1990; Aldasoro et al., 1998; Ludwig et al., 2013).

Рябина отличается скороплодностью, экологической приспособляемостью и накоплением в плодах высокого уровня биологически активных веществ (Streltsina et al., 2010; Sarv et al., 2020; Raudonis et al., 2014), используется как продовольственная и декоративная культура, применяется в традиционной медицине и является ценным сырьем для деревообрабатывающей промышленности (Kononov, 1954; Petrov, 1957; Rengarten, Sorokopudov, 2019a; 2019b; Klein et al., 2016).

Сохранение генетического разнообразия рябины актуально. Так, в опубликованном Международным союзом охраны природы и природных ресурсов (IUCN) Европейском красном списке деревьев указывается, что более трех четвертей видов рода *Sorbus*, произрастающих в Европе, находятся под угрозой исчезновения (The European Red List of Trees, 2025). Коллекции образцов различных видов и гибридов рода *Sorbus* сохраняются в ботанических садах и дендрариях многих стран Западной Европы – Бельгии, Нидерландов, Норвегии, Швеции, Шотландии, а также в США (King et al., 2023). В России наиболее крупные коллекции рябины находятся в Ботаническом саду Петра Великого, Санкт-Петербург, где сохраняются представители 44 видов и форм (Firsov, Vasiljev, 2015), в Сахалинском филиале Ботанического сада-института ДВО РАН – образцы 68 видов (Taran et al., 2011), в Центральном сибирском ботаническом саду Сибирского отделения РАН (ЦСБС СО РАН) – образцы ~40 видов и 26 межвидовых гибридов (Gorbunov, 2018), в коллекции Ботанического сада-института Уфимского научного центра РАН – образцы 31 вида и 11 сортов (Abdullina, 2017), в коллекционном фонде Полярно-альпийского ботанического сада-института (ПАБСИ) – представители 22 видов (Goncharova, 2022).

Представители видов *Sorbus aucuparia* L., *S. torminalis* (L.) Cranz., *S. discolor* (Maxim.) Maxim., *S. domestica* L., *S. aria* L.) Cranz, *S. chamaemespilus* (L.) Crantz, *S. austriaca* (Beck) Hedl. культивируются как декоративные растения в ботанических садах и парках Европы и Северной Америки (Mikulic-Petkovsek et al., 2017; Bobinaite et al., 2020). Плоды разных видов рябины бога-

тые витаминами, полисахаридами, органическими кислотами, биологически активными веществами, являются перспективным источником для создания лекарственных препаратов (Arvinte et al., 2023).

Известны как минимум 72 сорта рябины (Rengarten, Sorokopudov, 2019b). Около 25 сортов выведено в России. Основателем селекции рябины как плодовой культуры в России является И.В. Мичурин, который придавал большое значение введению в культуру новых нетрадиционных садовых растений (Kuminov, Zhidekhina, 2003). На основе отдаленной гибридизации И.В. Мичуриным были получены сорта рябины, которые до сих пор используются в селекции (Rengarten, Sorokopudov, 2019b). В качестве исходных форм для проведения скрещиваний И.В. Мичурин использовал широко распространенный морозоустойчивый вид рябины обыкновенной *Sorbus aucuparia* L. При межвидовой гибридизации этого вида с рябиной черноплодной *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot был получен сорт 'Ликерная', а при гибридизации с рябиной альпийской был выведен сорт 'Бурка'. В дальнейшем, зарубежные исследователи отмечали высокую антиоксидантную активность и уникальный фитохимический состав плодов у сортов 'Бурка' и 'Ликерная' (Drouet et al., 2018). На основе межродовых скрещиваний, например, с боярышником *Crataegus sanguinea* Pall., был получен сорт 'Гранатная', а при скрещивании сорта 'Ликерная' с мушмулой *Mespilus germanica* L. – сорт 'Мичуринская десертная' (Sokolov et al., 2015). Созданный И.В. Мичуриным гибридный фонд широко использовался его последователями, также привлекавшими для получения новых сортов рябины метод отдаленной гибридизации. В частности, сорт рябины 'Титан' был получен в комбинации скрещивания *S. aucuparia* × *Pyrus* sp. × *Malus* sp. (Poplavskaya, 2006). На основе целенаправленной интродукции и селекции последователи И.В. Мичурина селекционеры А.С. Тихонова и Т.К. Поплавская создали ряд сортов рябины: 'Алая крупная', 'Дочь Кубовой', 'Рубиновая', 'Ангри', 'Бусинка', 'Вефед', 'Сорбинка' (Kuminov, Zhidekhina, 2003). В настоящее время в Государственном реестре сортов и гибридов сельскохозяйственных растений, допущенных к использованию (далее в Госреестре), числится 11 сортов рябины отечественной селекции, из них девять сортов рябины выведены в ФГБНУ «Федеральный Научный Центр им. И.В. Мичурина» (ФНЦ им. И.В. Мичурина), State Register, 2024).

Информация о семенных и клоновых коллекциях рябины в генетических банках растений ограничена. В частности, 67 образцов видов и сортов рябины сохраняются в коллекции Национального хранилища клоновой зародышевой плазмы в Корваллисе, штат Орегон, США (NCGR, 2025). Там же сохраняются и 11 селекционных образцов, созданных классиками плодовой селекции прошлого века – Л. Бербанком и И.В. Мичуриным (King et al., 2023).

Полевая коллекция ВИР насчитывает 48 образцов рябины. В коллекции ФГБНУ «ФНЦ им. И.В. Мичу-

рина» в настоящее время сохраняются 23 сорта рябины и семь сортов аронии (персональное сообщение вед. науч. сотрудника, зав. отделом ягодных культур, канд. с.-х. наук Т.В. Жидехиной).

Еще меньше есть информации о сохранении образцов рябины в контролируемых условиях среды в коллекциях *in vitro* и криоколлекциях, несмотря на относительно большое число работ по оптимизации методов микроразмножения *in vitro* с целью сохранения образцов редких видов (Arrillaga et al., 1991; Mándy et al., 1997; Dobránszki et al., 2012; Máchová et al., 2013; Chalupa, 2002; Šedivá et al., 2023; Mandler-Drienyovszki, Magyar-Tábori, 2023; Gianguzzi, Sottile, 2024). Методы криоконсервации использовались для единичных образцов: одного образца вида *Sorbus torminalis* (L.) Crantz. (Kadolsky, 2005) и двух мичуринских сортов рябины (Vysotskaya, 2008). Два образца рябины находятся на длительном хранении в криобанке Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН (Yuorieva et al., 2023).

Как отмечено выше, в полевой коллекции ВИР сохраняются 48 образцов рябины, включая образцы 20 видов, 16 сортов, 12 из которых гибридного происхождения, и один образец аронии. Из них 46 образцов поддерживаются в полевой коллекции НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» и два – в полевой коллекции Филиала «Полярная опытная станция ВИР» (сообщение куратора полевой коллекции ст. науч. сотрудника отдела ГРП плодовых культур ВИР М.Н. Петровой). Дублетная *in vitro* коллекция ВИР включает 13 образцов рябины (Dunaeva et al., 2018).

Для криоконсервации образцов разных видов растений успешно используется метод капель-витрификации (Panis et al., 2005; 2011; Panis, 2019). Данный метод применяется и в отделе биотехнологии ВИР для создания дублетных криоколлекций образцов малины (Kamnev et al., 2022) и картофеля (Gavrilenko et al., 2019; Efremova et al., 2023) и их длительного хранения в криобанке ВИР. Задача настоящей работы заключалась в криоконсервации образцов рябины из *in vitro* коллекции ВИР с целью формирования криоколлекции этой культуры.

## Материалы и методы

Информация о шести сортах рябины, использованных в данной работе, представлена в таблице. Три из шести сортов входят в Госреестр селекционных достижений (State Register, 2024), пять, кроме сорта 'Сорбинка', входят в Национальный Каталог. Сорта 'Бурка' и 'Гранатная' можно отнести к историческим, оба были созданы И.В. Мичуриным.

Два сорта, 'Сорбинка' и 'Титан', были получены из коллекции «ФНЦ им. И.В. Мичурина» в 2023 году, остальные – из полевой коллекции Павловской опытной станции ВИР в 2006-2007 годах (таблица). Сразу после

получения растительного материала, годичных побегов, образцы были введены в культуру *in vitro*. Таким образом, два образца, 'Сорбинка' и 'Титан', поддерживаются в коллекции ВИР около двух лет, а остальные – от 16 до 17 лет.

Введение в культуру *in vitro* и поддержание образцов в коллекции *in vitro* проводили согласно методикам, приведенным в Методических указаниях ВИР (Dunaeva et al., 2017). Поддержание образцов в активной *in vitro* коллекции проводится на безгормональной питательной среде Мурасиге и Скуга – MS (Murashige, Skoog, 1962).

**Криоконсервация.** Для получения необходимого числа апексов (около 200 на один образец) верхушки побегов растений из культуры *in vitro* высаживали на питательную среду MS, дополненную 6-БАП (1 мг/л), сахарозой (30 г/л) и агаром (7 г/л) и проводили одно-два субкультивирования с интервалом 4-5 недель. Для каждого образца вычленили 180 апексов, по 60 в трех независимых повторностях. Криоконсервацию эксплантов осуществляли методом капель-витрификации (DV, Panis et al., 2005) в модификациях (Dunaeva et al., 2017; Ukhatoeva et al., 2017; Gavrilenko et al., 2019). В каждой повторности 10 апексов использовали в контрольном варианте '–LN' – обработка эксплантов и криопротекторами без погружения в жидкий азот, 20 – в контрольном варианте '+LN' – обработка эксплантов криопротекторами с погружением в жидкий азот на один час.

Для оценки регенерационной способности апексы контрольных вариантов культивировали на питательной среде MSTo (меристемная среда, Towill, 1983), включающей макросоли, микросоли и витамины по MS, сахарозу – 20 г/л, агар – 7 г/л, зеатин рибозид – 0,5 мг/л, ИУК – 0,5 мг/л, ГК – 0,2 мг/л. Растворы фитогормонов стерилизовали через мембранный фильтр, размер пор 0,22 мкм, и добавляли в охлажденную питательную среду MS. Культуры *in vitro* поддерживали при температуре 22-23°C, при фотопериоде 16 часов и интенсивности светового потока 40 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>. Регенерационную способность апексов в контрольных вариантах определяли через шесть недель после криоконсервации, подсчитывая среднее значение по трем повторностям. Оставшиеся 30 криоконсервированных эксплантов в каждой повторности оставляли в сосуде Дьюара с жидким азотом для передачи в криобанк. Каждый образец закладывали на длительное хранение в криобанк ВИР в количестве 90 апексов.

## Результаты и обсуждение

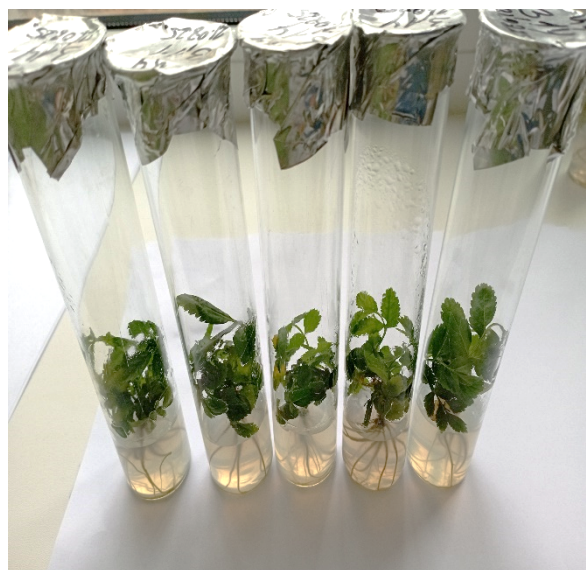
В результате микроразмножения образцов из коллекции *in vitro* было получено необходимое число микропобегов для изоляции и последующей криоконсервации апексов (рис. 1 а, б). Регенерационная способность каждого из шести сортов рябины была определена в трех повторностях для двух контрольных вариантов опыта: '–LN' и '+LN' (см. Материалы и методы; рис. 1 с, д).



Таблица. Характеристика сортов рябины, используемых для криоконсервации  
Table. Characteristics of rowan cultivars used for cryopreservation

Сорт, № каталога ВИР/ Cultivar, VIR catalogue No.	Авторы сорта, место выведения сорта/ Cultivar author, released by	Родительские формы, метод получения/ Parent forms, breeding method	Данные Госреестра/ State Register Data (State Register, 2024)				Основные характеристики сорта/ Main characteristics of the cultivar	Ссылка/ Reference
			Код в Госреестре/ Code in the State Register	Год включения в Госреестр/ Year of inclusion in the State Register	Регион допуска/ Region of admittance			
‘Алая крупная’, к-40574	А.С. Тихонова. Т.К. Поплавская ВНИИГи СПР имени И.В. Мичурина*	<i>S. aucuparia</i> × (смесь пыльцы сортов группы) × <i>S. aucuparia</i> <i>var. moravica Zengerl.</i>	8404275	1999	Все регионы		Высокая урожайность. Очень высокая зимостойкость. Устойчив к засухам, вредителям и болезням. Самоплодность 18,7%.	Sedov, 2014
‘Бурка’, к-40566	И.В. Мичурин питомник И.В. Мичурина, 1918 год	<i>S. alpina</i> × <i>S. aucuparia</i>	–	–	–		Плоды сладкие. Дерево чрезвычайно выносливо к морозам.	Michurin, 1949
‘Гранатная’, к-40571	И.В. Мичурин Селекционно- генетическая станция плодовых культур, 1926 год	<i>S. aucuparia</i> L. × <i>Crataegus sanguinea</i> Pall.	–	–	–		Морозостойкость высокая. Плоды крупные, кисло-сладкого вкуса, без горечи.	Michurin, 1949
‘Красная крупная’, к-40572 (‘Красная крупноплодная’)	Народная селекция	относится к Невежинской рябине	–	–	–		Высокорослое дерево, плоды кисло- сладкого вкуса. Зелеными черенками размножается плохо.	Ermakov et al., 2019
‘Титан’, и-645223	А.С. Тихонова Т.К. Поплавская ВНИИГиСПР имени И.В. Мичурина	<i>S. aucuparia</i> х (смесь пыльцы <i>Rugus</i> sp. × <i>Malus</i> sp	8802955	1999	Все регионы		Ранний срок вступления в плодоношение, морозостойкий, устойчивый к засухе, болезням и вредителям. Самоплодность 26,6%.	Poplavskaya, 2006
‘Сорбинка’, и-645222	Т.К. Поплавская ВНИИГиСПР имени И.В. Мичурина	Отбор из популяции <i>S. aucuparia</i> <i>var. moravica Zengerl.</i>	9005161	1999	Все регионы		Зимостойкий, устойчивый к болезням, универсального назначения. Урожай обильный, ежегодный. Самоплодность 23,9%.	Poplavskaya, 2006

\* – ВНИИГиСПР – Всесоюзный научно-исследовательский институт генетики и селекции плодовых растений, теперь – «ФНЦ им. И.В. Мичурина»



a



b



c



d

**Рис. 1. Микроразмножение образцов рябины для дальнейшей криоконсервации и оценка регенерационной способности изолированных апексов микропобегов в контрольных вариантах опытов**

a – микрорастения рябины из коллекции *in vitro*; b – этап микроразмножения; регенерационная способность апексов в контрольных опытах ‘-LN’ и ‘+LN’ у сортов ‘Сорбинка’ (c) и ‘Бурка’ (d).

**Fig. 1. Micropropagation of rowan accessions for further cryopreservation; regenerative capacity of isolated apices in control tests**

a – rowan microplants from the *in vitro* collection; b – micropropagation stage; apex regenerative capacity in cvs. ‘Sorbinka’ (c) and ‘Burka’ (d) in control ‘-LN’ and ‘+LN’ tests.

У шести сортов рябины уровень регенерации в варианте ‘-LN’ варьировал от 100±0% (‘Красная крупная’) до 75±15% (‘Сорбинка’), а в варианте пост-криогенной регенерации ‘+LN’ – от 53,3±1,7% (‘Гранатная’) до 96,6±1,6% (‘Алая крупная’) (рис. 2). Сорт ‘Алая крупная’ по частоте посткриогенной регенерации достоверно превышал другие сорта за исключением сорта ‘Бурка’. Следует отметить, что сорта рябины ‘Алая крупная’, ‘Бурка’,

‘Гранатная’ и ‘Красная крупная’ были введены в коллекцию *in vitro* в 2006-2007 годах, в то время как сорта ‘Сорбинка’ и ‘Титан’ – в 2023 году, то есть на 16-17 лет позже. Как видно из полученных данных (см. рис. 2), фактор длительности пребывания образцов в культуре *in vitro* не оказал существенного влияния на их регенерационную способность, в том числе и после криоконсервации.

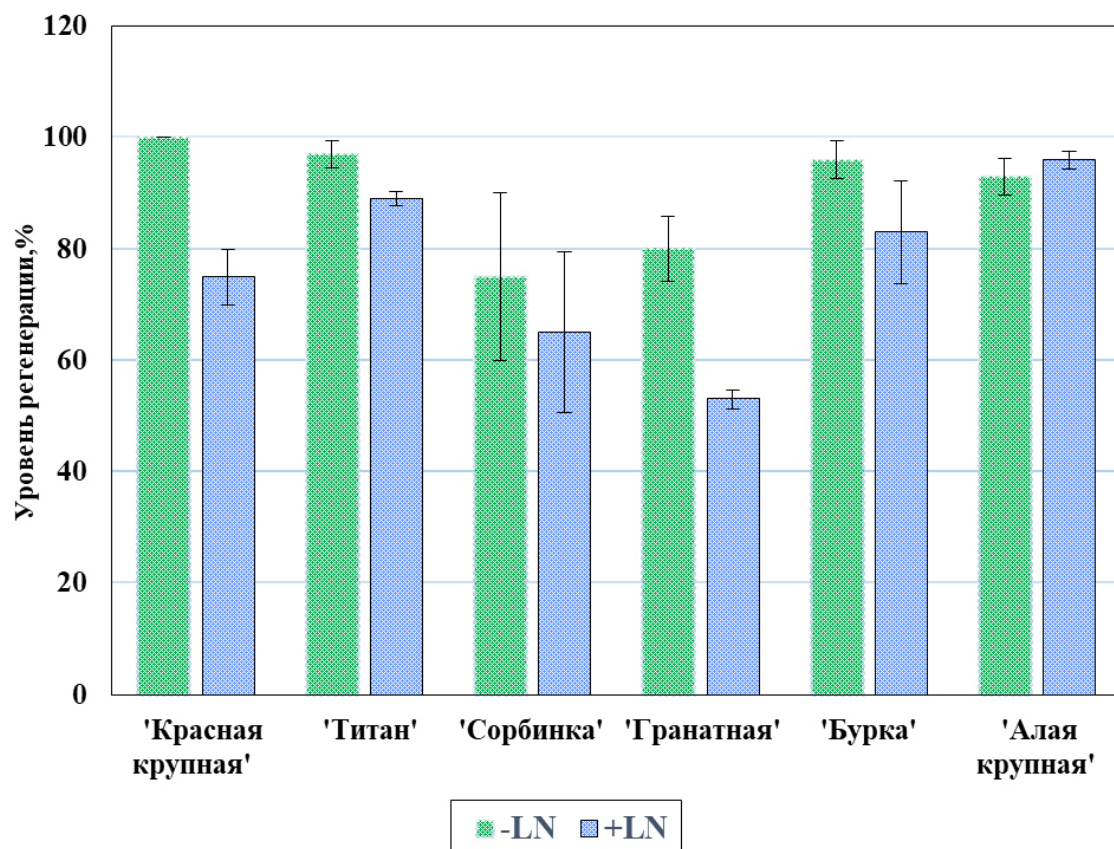


Рис. 2. Уровень регенерации апексов у шести сортов рябины в контрольных вариантах опытов ‘-LN’ (■) и ‘+LN’ (■)

Fig. 2. Apex regeneration level in six rowan cultivars in control ‘-LN’ (■) and ‘+LN’ (■) tests

В зависимости от сорта уровень пост-криогенной регенерации в контрольных экспериментах (вариант опыта ‘+LN’) варьировал от 97% до 53%, что соответствует рекомендациям для закладки образцов на длительное хранение, согласно которым уровень регенерации у передаваемых в криобанки образцов должен составлять не менее 39% (Dussert et al., 2003; Volk et al., 2017). Таким образом, в настоящей работе продемонстрирована высокая эффективность использования модифицированного в ВИР метода капель-витрификации для криоконсервации сортов рябины. Полученные нами результаты согласуются с опубликованными данными (Kadolsky, 2005; Vysotskaya, 2008), в которых криоконсервацию единич-

ных образцов рябины проводили с использованием различных методов; в обеих работах авторы зарегистрировали высокий процент посткриогенной жизнеспособности эксплантов – от 80% до 100%.

В криобанк ВИР на длительное хранение заложены образцы шести сортов рябины в количестве 90 апексов на образец. Эти результаты можно рассматривать как начало формирования криокolleкции образцов рябины в ВИР.

### Заключение

Результаты проведенной нами работы указывают на перспективы использования метода капель-витрифика-



ции для дальнейшего расширения криоколлекции образцов рябины, что является перспективной стратегией для долгосрочного хранения видового и сортового разнообразия рябины, позволяющей минимизировать риск генетических изменений сохраняемых образцов.

## References/Литература

- Abdullina R.G. Collection of *Sorbus* L. genus in the city of Ufa Botanical Garden. *Hortus Botanicus*. 2017;2:713-721. [in Russian] (Абдуллина Р.Г. Коллекция рода *Sorbus* L. в ботаническом саду г. Уфа. *Hortus Botanicus*. 2017;2:713-721). DOI: 10.15393/j4.art.2017.4383
- Aldasoro J.J., Aedo C., Navarro C., Garmendia F.M. The genus *Sorbus* (Maloideae, Rosaceae) in Europe and in North Africa: morphological analysis and systematics. *Systematic Botany*. 1998;23:189-212.
- Arrillaga I., Marzo T., Segura J. Micropropagation of juvenile and adult *Sorbus domestica* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 1991;27(3):341-348. DOI: 10.1007/BF00157600
- Arvinte O.M., Senila L., Becze A., Amariei S. Rowanberry – a source of bioactive compounds and their biopharmaceutical properties. *Plants*. 2023;12(18):3225. DOI: 10.3390/plants12183225
- Bobinaite R., Grootaert C., Van Camp J., Šarkinas A., Liaudanskas M., Žvikas V., Viškelis P., Venskutonis P.R. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activities of the extracts isolated from the pomace of rowanberry (*Sorbus aucuparia* L.). *Food Research International*. 2020;136:109310. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109310
- Chalupa V. *In vitro* propagation of mature trees of *Sorbus aucuparia* L. and field performance of micropropagated trees. *Journal of Forest Science*. 2002;48:529-535. DOI: 10.17221/11923-JFS
- Dobránszki J., Magyar-Tábori K., Jevcsák M., ÖRDÖGH M., Jámor-Benczúr E. Improving the *in vitro* rooting of micro-shoots of *Sorbus rotundifolia* 'Bükk szépe' by the sequential application of Humus® FW and Wuxal® Super organic and chemical fertilisers. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 2012;87(5):509-513. DOI: 10.1080/14620316.2012.11512903
- Drouet S., Doussot J., Garros L., Mathiron D., Bassard S., Favre-Régouillon A., Molinié R., Lainé É., Hano C. Selective synthesis of 3-*O*-palmitoyl-silybin, a new-to-nature flavonolignan with increased protective action against oxidative damages in lipophilic media. *Molecules*. 2018;23(10):2594. DOI: 10.3390/molecules23102594
- Dunaeva S.E., Pendinen G.I., Antonova O.Y., Shvachko N.A., Ukhatoeva Y.V., Shuvalova L.E., Volkova N.N., Gavrilenko T.A. Preservation of vegetatively propagated crops in *in vitro* and cryo collections: methodological guidelines. (Sokhraneniye vegetativno razmnozhayemykh kul'tur v *in vitro* i krio kollektsiyakh: metodicheskiye ukazaniya). T.A. Gavrilenko (ed.). 2<sup>nd</sup> ed. St. Petersburg: VIR; 2017. [in Russian] (Дунаева С.Е., Пендинен Г.И., Антонова О.Ю., Швачко Н.А., Ухатова Ю.В., Шувалова Л.Е., Волкова Н.Н., Гавриленко Т.А. Сохранение вегетативно размножаемых культур в *in vitro* и крио коллекциях: методические указания / под ред. Т.А. Гавриленко. 2-е изд. Санкт-Петербург: ВИР; 2017).
- Dunaeva S.E., Orlova S.Yu., Tikhonova O.A., Gavrilenko T.A. *In vitro* collection of berry and fruit crops and their wild relatives at VIR. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2018;1(1):43-51. [in Russian] (Дунаева С.Е., Орлова С.Ю., Тихонова О.А., Гавриленко Т.А. Образцы ягодных и плодовых культур и их дикорастущих родичей в коллекции *in vitro* ВИР. *Биотехнология и селекция растений*. 2018;1(1):43-51). DOI: 10.30901/2658-6266-2018-1-43-51
- Dussert S., Engelmann F., Noirot M. Development of probabilistic tools to assist in the establishment and management of cryopreserved plant germplasm collections. *CryoLetters*. 2003;24(3):149-160.
- Efremova O.S., Volkova N.N., Rybakov D.A., Lisitsyna O.V., Ozerski P.V., Gavrilenko T.A. Development of the potato cryocollection preserved in the VIR cryobank. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2023;184(3):9-20. [in Russian] (Ефремова О.С., Волкова Н.Н., Рыбаков Д.А.,
- Лисицына О.В., Озерский П.В., Гавриленко Т.А. Расширение криоколлекции образцов картофеля, сохраняемой в криобанке ВИР. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2023;184(3):9-20). DOI: 10.30901/2227-8834-2023-3-9-20
- Ermakov M.A., Volkova O.D., Khotsialova L.I., Zagumennikova T.N., Potapova A.V. Rowan in the collection of the Laboratory of Cultivated Plants of the N.V. Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences (Ryabina v kollektsii laboratorii kulturnykh rasteniy Glavnogo botanicheskogo sada imeni N.V. Tsitsina RAN) *Hortus Botanicus*. 2019;14. [in Russian] (Ермаков М.А., Волкова О.Д., Хоциалова Л.И., Загуменникова Т.Н., Потапова А.В. Рябина в коллекции лаборатории культурных растений Главного ботанического сада имени Н.В. Цицина РАН. *Hortus Botanicus*. 2019;14). DOI: 10.15393/j4.art.2019.6224
- Firsov G.A., Vasiljev N.P. The genus Rowan (*Sorbus*) in the collection of Peter the Great Botanical Gardens in St. Petersburg. (Rod Ryabina (*Sorbus*) v kollektsii Botanicheskogo sada Petra Velikogo v Sankt-Peterburge). *Flora and vegetation of Asian Russia*. 2015;4(20):86-93. [in Russian] (Фирсов Г.А., Васильев Н.П. Род Рябина (*Sorbus*) в коллекции Ботанического сада Петра Великого в Санкт-Петербурге. *Растительный мир Азиатской России*. 2015;4(20):86-93).
- Gavrilenko T.A., Shvachko N.A., Volkova N.N., Ukhatoeva Yu.V. A modified droplet vitrification method for cryopreservation of shoot tips from *in vitro* potato plants. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(4):422-429. [in Russian] (Гавриленко Т.А., Швачко Н.А., Волкова Н.Н., Ухатова Ю.В. Модифицированный метод дроплет-витрификации для криоконсервации апексов *in vitro* растений картофеля. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2019;23(4):422-429). DOI: 10.18699/VJ19.505
- Gianguzzi V., Sottile F. Temporary immersion system as an innovative approach for *in vitro* propagation of *Sorbus domestica* L. *Horticulturae*. 2024;10(2):164. DOI: 10.3390/horticulturae10020164
- Goncharova O.A. Assessment of vitality and decorative qualities of introduced plants of the genus *Sorbus* L. on the Kola Peninsula (Otsenka zhiznennogo sostoyaniya i dekorativnykh kachestv introdutsirovannykh rasteniy roda *Sorbus* L. na Kol'skom poluostrove). *Hortus Botanicus*. 2022;17:139-153. [in Russian] (Гончарова О.А. Оценка жизненного состояния и декоративных качеств интродуцированных растений рода *Sorbus* L. на Кольском полуострове. *Hortus Botanicus*. 2022;17:139-153).
- Gorbunov A.B. Introduction of not widespread fruits and berries in Siberia for their application as functional food products. *Vestnik NSAU (Novosibirsk State Agrarian University)*. 2018;(4):62-73. [in Russian] (Горбунов А.Б. Интродукция малораспространенных плодовых и ягодных растений Сибири для использования в качестве функциональных продуктов питания. *Вестник НГАУ*. 2018;(4):62-73). DOI: 10.31677/2072-6724-2018-49-4-62-73
- Kadolsky M. Kryokonservierung und *in vitro* kultur von *Pyrus pyrastra* (L.) Burgsd. und *Sorbus torminalis* (L.) Crantz. 2005. [in German] DOI: 10.18452/15652
- Kamnev A.M., Dunaeva S.E., Volkova N.N., Lisitsyna O.V., Gavrilenko T.A. Cryopreservation of raspberry cultivar accessions bred in Russia from the VIR *in vitro* collection. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2022;5(1):17-27. [in Russian] (Камнев А.М., Дунаева С.Е., Волкова Н.Н., Лисицына О.В., Гавриленко Т.А. Криоконсервация образцов сортов малины отечественной селекции из *in vitro* коллекции ВИР. *Биотехнология и селекция растений*. 2022;5(1):17-27). DOI: 10.30901/2658-6266-2022-1-17-27
- King R., Bassil N.V., Rounsaville T.J., Reinhold L.A. *Sorbus sensu lato*: a complex genus with unfulfilled crop potential. *Journal of the American Pomological Society*. 2023;77(2):110-127.
- Klein A., Bockhorn O., Mayer K., Grabner M. Central European wood species: characterization using old knowledge. *Wood Science*. 2016;62:194-202. DOI: 10.1007/s10086-015-1534-3
- Komarov V.L. Rowan – *Sorbus* L. In the book: *Flora of the USSR*. Vol. 9. Moscow-Leningrad: USSR Academy of Sciences Publ.; 1939. p. 372-395. [in Russian] (Комаров В.Л. Рябина – *Sorbus* L.

- В кн.: *Флора СССР*. Т. 9. Москва-Ленинград: Изд-во АН СССР; 1939. С. 372-395).
- Kononov I.N., Rowan *Sorbus* L. (Ryabina *Sorbus* L.) In: Kononov I.N. *Trees and shrubs of the USSR*. Vol. 3. Moscow-Leningrad: USSR Academy of Sciences Publ.; 1954. p. 458-483. [in Russian] (Коновалов И.Н. Рябина *Sorbus* L. В кн.: Коновалов И.Н. *Деревья и кустарники СССР*. Т. 3. Москва-Ленинград: Изд-во АН СССР; 1954. С. 458-483).
- Kuminov E.P., Zhidekhina T.V. Introduction to the culture of wild fruit plants. (Vvedenie v kul'turu dikorastushchikh plodovykh rasteniy). *Netraditsionnye selskokhozyaistvennye, lekarstvennye i dekorativnye rasteniya = Non-traditional agricultural, medicinal and ornamental plants*. 2003;1(1):44-60. [in Russian] (Куминов Е.П., Жидехина Т.В. Введение в культуру дикорастущих плодовых растений. *Нетрадиционные сельскохозяйственные, лекарственные и декоративные растения*. 2003;1(1):44-60).
- Ludwig S., Robertson A., Rich T.C.G., Djordjevic M., Cerovic R., Houston L., Harris S.A., Hiscock S.J. Breeding systems, hybridization and continuing evolution in Avon Gorge *Sorbus*. *Annals of Botany*. 2013;111:563-575. DOI: 10.1093/aob/mct013
- Máchová P., Malá J., Cvrčková H., Dostál J., Buriánek V. *In vitro* reproduction of rare and endemic species of rowan tree. *The Journal of Forest Science*. 2013;59:386-390. DOI: 10.17221/46/2013-JFS
- Mándy A., Jámor-Benczúr E., Szafián Z., Csillag A. The effect of basic media and growth regulators on *in vitro* propagated *Sorbus degenii* 'Csákvár'. *Acta Horticulturae*. 1997;447:157-159. DOI: 10.17660/ActaHortic.1997.447.26
- Mendler-Drienyovszki N., Magyar-Tábori K. Response of rowan berry (*Sorbus redliana*) shoot culture to slow growth storage conditions. *Plants*. 2023;12:1287. DOI: 10.3390/plants12061287
- Michurin I.V. Results of sixty years of work: [1855-1935] (Itogi shestidesyatiletikh rabot: [1855-1935]). Moscow: Selkhozgiz; 1949. [in Russian] (Мичурин И.В. Итоги шестидесятилетних работ: [1855-1935]. Москва: Сельхозгиз; 1949).
- Mikulic-Petkovsek M., Krška B., Kiprovski B., Veberic R. Bioactive Components and Antioxidant Capacity of Fruits from Nine *Sorbus* Genotypes. *The Journal of Food Science*. 2017;82:647-658. DOI: 10.1111/1750-3841.13643
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15:473-497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- NCGR-Corvallis *Sorbus* Catalog Mountain Ash. *Sorbus* Cultivars, Selections, and Hybrids. Available from: <https://www.ars.usda.gov/ARUserFiles/20721500/catalogs/soracc.html> [accessed Sept. 15, 2025].
- Panis B. Sixty years of plant cryopreservation: from freezing hardy mulberry twigs to establishing reference crop collections for future generations. *Acta Horticulture*. 2019;1234:1-7. DOI: 10.17660/ActaHortic.2019.1234.1
- Panis B., Piette B., André E., Van den Houwe I., Swennen R. Droplet vitrification: the first generic cryopreservation protocol for organized plant tissues? *Acta Horticulture*. 2011;908:157-162. DOI: 10.17660/ActaHortic.2011.908.17
- Panis B., Piette B., Swennen R. Droplet vitrification of apical meristems: A cryopreservation protocol applicable to all *Musaceae*. *Plant Science*. 2005;168:45-55. DOI: 10.1016/j.plantsci.2004.07.022
- Petrov E.M. Rowan (Ryabina). Moscow: Selkhozgiz; 1957. [in Russian] (Петров Е.М. Рябина. Москва: Сельхозгиз; 1957).
- Phipps J.B., Robertson K., Smith P.G., Rohrer J.R. A checklist of the subfamily *Maloideae* (Rosaceae). *Canadian Journal of Botany*. 1990;68:2209-2269. DOI: 10.1139/b90-288
- Poplavskaya T.K. Breeding and introduction of new rowan varieties in Russian horticulture (Selektsiya i vnedreniye novykh sortov ryabiny v sadovodstvo Rossii). Perm: Perm Book Publishing House; 2006. [in Russian] (Поплавская Т.К. Селекция и внедрение новых сортов рябины в садоводство России. Пермь: Пермское книжное издательство; 2006).
- Raudonis R., Raudonė L., Gaivelytė K., Viškelis P., Janulis V. Phenolic and antioxidant profiles of rowan (*Sorbus* L.) fruits. *Natural Products Research*. 2014;28(16):1231-1240. DOI: 10.1080/14786419.2014.895727.
- Rengarten G.A., Sorokopudov V.N. Selection of rows as a decorative culture in Russia and in European countries. *the Bulletin of the KrasGAU*. 2019a;6(147):9-15. [in Russian] (Ренгартен Г.А., Сорокопудов В.Н. Селекция рябины как декоративной культуры в России и европейских странах. *Вестник Красноярского государственного аграрного университета*. 2019a;6(147):9-15). URL: [http://www.kgau.ru/vestnik/2019\\_6/content/2.pdf](http://www.kgau.ru/vestnik/2019_6/content/2.pdf) [дата обращения: 24.09.2025]
- Rengarten G.A., Sorokopudov V.N. Introduction and breeding of *Sorbus* (Rosaceae) as a food plant in countries of the world (Introduktsiya i selektsiya *Sorbus* (Rosaceae) v kachestve pishchevogo rasteniya v stranakh mira). *Ekosistemy = Ecosystems*. 2019b;18(48):89-96. [in Russian] (Ренгартен Г.А., Сорокопудов В.Н. Интродукция и селекция *Sorbus* (Rosaceae) в качестве пищевого растения в странах мира. *Экосистемы*. 2019b;18(48):89-96).
- Sarv V., Venskutonis P.R., Bhat R. The *Sorbus* spp. – Underutilised plants for foods and nutraceuticals: review on polyphenolic phytochemicals and antioxidant potential. *Antioxidants* (Basel). 2020;Sep;1(9):813. DOI: 10.3390/antiox9090813
- Šedivá J., Velebil J., Zahradník D. Micropropagation as a tool for the conservation of autochthonous *Sorbus* species of Czechia. *Plants*. 2023;12:488. DOI: 10.3390/plants12030488
- Sedov E.N. et al. (eds). Pomology. Vol. 5: Strawberry, raspberry, nut and rare crops (Pomologiya. T. 5: Zemlyanika, malina, orekhoplodnye i redkiye kul'tury). Orel: VNIISPB; 2014. [in Russian] (Помология. Т. 5: Земляника, малина, орехоплодные и редкие культуры. ред. Е.Н. Седов и др. Орел: ВНИИСПБ; 2014)
- Sokolov V.A., Savel'ev N.I., Goncharov N.P. I.V. Michurin's work on expansion of the plant horticulture assortment and improvement of food quality. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences*. 2015;69(4):90-197. DOI: 10.1515/prolas-2015-0028
- State Register of Varieties and Hybrids of Agricultural Plants Admitted for Usage (National List): official publication. Moscow: Rosinformagrotech; 2024. [in Russian] (Государственный реестр сортов и гибридов сельскохозяйственных растений, допущенных к использованию: официальное издание. Москва: Росинформгиротех; 2024). URL: <https://gossortrf.ru/upload/iblock/00a/clri6obhudueqx6t1f6awcrsp6vm6psk.pdf> [дата обращения: 15.09.2025]
- Streltsina S.A. Burmistrov L.A., Nikitina E.V. Nutrient and bioactive substances in rowan (*Sorbus* L.) berries in the conditions of the northwestern horticultural zone of Russia (Pitatelnye i biologicheski aktivnyye veshchestva plodov ryabiny (*Sorbus* L.) v usloviyakh Severo-Zapadnoy zony sadovodstva Rossii). *Agrarnaya Rossiya = Agrarian Russia*. 2010;3:10-17. [in Russian] (Стрельцина С.А., Бурмистров Л.А., Никитина Е.В. Питательные и биологически активные вещества плодов рябины (*Sorbus* L.) в условиях Северо-Западной зоны садоводства России. *Аграрная Россия*. 2010;3:10-17).
- Taran A.A., Taran An.A., Chabanenko S.I., Sheiko V.V., Kazhaeva M.V. Catalogue of plants of the Sakhalin Botanical Garden FEB RAS: reference manual (Katalog rasteniy Sakhalinskogo botanicheskogo sada DVO RAN: spravochnoye posobie). V.M. Eremin (ed.). Yuzhno-Sakhalinsk: SB BSI FEB RAS; 2011. [in Russian] (Таран А.А., Таран Ан.А., Чабаненко С.И., Шейко В.В., Кажаяева М.В. Каталог растений Сахалинского ботанического сада ДВО РАН: справочное пособие / под ред. В.М. Еремина. Южно-Сахалинск: СФ БСИ ДВО РАН; 2011).
- The European Red List of Trees. Available from: <https://www.bgci.org/our-work/projects-and-case-studies/the-red-list-of-european-trees/> [accessed Sept. 15, 2025].
- Towill L.E. Improved survival after cryogenic exposure of shoot tips derived from *in vitro* plantlet cultures of potato. *Cryobiology*. 1983;20(5):567-573. DOI: 10.1016/0011-2240(83)90045-7
- Ukhatova Y.V., Dunaeva S.E., Antonova O.Y., Apalikova O.V., Pozdniakova K.S., Novikova L.Y., Shuvalova L.E., Gavrilenko T.A. Cryopreservation of red raspberry cultivars from the VIR *in vitro* collection using a modified droplet vitrification method. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*. 2017;53(4):394-401. DOI: 10.1007/s11627-017-9860-3
- Vitkovsky V.L. Fruit Plants of the World. St. Petersburg, Moscow, Krasnodar: Lan'; 2003. [in Russian] (Витковский В.Л. Плодовые растения мира. Санкт-Петербург, Москва, Краснодар: Лань; 2003).



Volk G.M., Henk A.D., Jenderek M.M., Richards C.M. Probabilistic viability calculations for cryopreserving vegetatively propagated collections in genebanks. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2017;64(7):1613-1622. DOI: 10.1007/s10722-016-0460-6

Vysotskaya O.N. Cryopreservation *in vitro* of mountain ash (*Sorbus L.*) shoot tips. In: *The IX International Conference «The Biology of plant cells in vitro and biotechnology»*: Abstract; 2008 September 8-12; Zvenigorod, Russia. Moscow; 2008. p. 80-81. [in Russian] (Высоцкая О.Н. Криосохранение *in vitro* верхушек побегов рябины. В кн.: *IX Международная конференция «Биология клеток растений in vitro и биотехнология»*: тезисы;

8-12 сентября 2008 г. Звенигород, Россия. Москва; 2008. С.80-81). URL: <https://ippras.ru/upload/files/Abstracts.pdf> [дата обращения 15.09.2025].

Yuorieva N.; Sinetova M.; Messineva E., Kulichenko I., Fomenkov A., Vysotskaya O., Osipova E., Baikalova A., Prudnikova O., Titova M., Nosov A.V., Popova E. Plants, cells, algae, and cyanobacteria *in vitro* and cryobank collections at the Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences – a platform for research and production center. *Biology*. 2023;12(6):838. DOI: 10.3390/biology12060838

### Информация об авторах

**Светлана Ефимовна Дунаева**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, [dunaevase@mail.ru](mailto:dunaevase@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-7002-8066>

**Ольга Владимировна Лисицына**, ведущий специалист, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, [olgalis86@yandex.ru](mailto:olgalis86@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-6632-3465>

**Наталья Николаевна Волкова**, ведущий специалист, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, [nata.volkova@yandex.ru](mailto:nata.volkova@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0001-8034-9891>

**Татьяна Андреевна Гавриленко**, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, [tatjana9972@yandex.ru](mailto:tatjana9972@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-2605-6569>

### Information about the authors

**Svetlana E. Dunaeva**, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, [dunaevase@mail.ru](mailto:dunaevase@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-7002-8066>

**Olga V. Lisitsyna**, Leading Specialist, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, [olgalis86@yandex.ru](mailto:olgalis86@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-6632-3465>

**Natalia N. Volkova**, Leading Specialist, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, [nata.volkova@yandex.ru](mailto:nata.volkova@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0001-8034-9891>

**Tatjana A. Gavrilenko**, Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, [tatjana9972@yandex.ru](mailto:tatjana9972@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-2605-6569>

#### Вклад авторов:

**С.Е. Дунаева**: курирование данных, написание статьи;

**О.В. Лисицына**: микроразмножение, криоконсервация, документация данных, закладка образцов в криобанк;

**Н.Н. Волкова**: микроразмножение, криоконсервация, документация данных, закладка образцов в криобанк;

**Т.А. Гавриленко**: планирование работы, рецензирование и редактирование статьи.

#### Contribution of the authors:

**S.E. Dunaeva**: data curation, article writing;

**O.V. Lisitsyna**: micropropagation, cryopreservation, data documentation, accessions placement into the cryobank;

**N.N. Volkova**: micropropagation, cryopreservation, data documentation, accessions placement into the cryobank;

**T.A. Gavrilenko**: work planning, reviewing and editing the article.

**Конфликт интересов**: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interests**: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 25.08.2025; одобрена после рецензирования 15.09.2025; принята к публикации 23.09.2025.

The article was submitted on 25.08.2025; approved after reviewing on 15.09.2025; accepted for publication on 23.09.2025.

## Краткое сообщение

УДК 575.1:575.2:631.526.32:635.64(476)(092)

DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-04



## К юбилею академика НАН Беларуси Александра Владимировича Кильчевского

О. Г. Бабак<sup>1</sup>, Е. К. Хлесткина<sup>2,3,4</sup>, А. В. Кочетов<sup>3,4</sup><sup>1</sup>Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь<sup>2</sup>Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия<sup>3</sup>Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия<sup>4</sup>Вавиловское общество генетиков и селекционеров, Новосибирск, Россия**Автор, ответственный за переписку:** Ольга Геннадьевна Бабак, O.Babak@igc.by

Александру Владимировичу Кильчевскому, доктору биологических наук, профессору, заслуженному деятелю науки Республики Беларусь, председателю Белорусского общества генетиков и селекционеров (БОГиС), лауреату Премий НАН Беларуси и Премии союзного государства, академику Национальной академии наук (НАН) Беларуси, талантливому ученому в области генетики и биотехнологии, известному в стране и за ее пределами, лидеру белорусской научной школы в области генетики, геномики, биотехнологии и селекции растений, заместителю председателя Президиума НАН Беларуси, 17 августа 2025 г. исполнилось 70 лет. Им впервые в стране в Белорусской государственной сельскохозяйственной академии (БГСХА) создана кафедра биотехнологии и биотехнологический центр; выявлены основные закономерности взаимоотношений генотип-среда, проявляющиеся на разных этапах селекции; разработаны принципы и методы экологической селекции растений с использованием современных биотехнологических подходов, направленные на создание высокопродуктивных и экологически устойчивых сортов растений; разработаны методы маркер-ассоциированной селекции овощных пасленовых культур; созданы в соавторстве 79 районированных в Беларуси сортов растений, среди которых 57 сортов томата и 18 сортов перца. Результаты его научных исследований опубликованы более чем в 800 научных работах, в том числе в 10 монографиях, четырех книгах и учебниках. Под руководством А.В. Кильчевского защищены четыре докторские и 22 кандидатские научные работы, создан Национальный координационный центр биобезопасности, Республиканский центр геномных биотехнологий; Республиканский банк ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов, Республиканский центр изучения микробиома. Его заслуги признаны как в стране, так и за рубежом. Академик А.В. Кильчевский – член Президиума Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь, член правления Фонда фундаментальных исследований Республики Беларусь, почетный доктор БГСХА, почетный профессор Варминско-Мазурского университета в Ольштыне (Польша), почетный член Европейской биотехнологической ассоциации. Александр Владимирович награжден медалью Франциска Скорины, медалью НАН Беларуси «За достижения в науке», медалью имени академика И.В. Курчатова I степени и медалью имени академика Н.И. Вавилова, почетными грамотами республиканских и зарубежных ведомств.

**Ключевые слова:** экологическая генетика растений, геномика и биотехнология растений, маркер-ориентированная селекция, овощные культуры семейства Пасленовые, технологии молекулярного маркирования, селекционные достижения.

**Для цитирования:** Бабак О.Г., Хлесткина Е.К., Кочетов А.В. К юбилею академика НАН Беларуси Александра Владимировича Кильчевского. *Биотехнология и селекция растений*. 2025;8(3):65-75. DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-04

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

© Бабак О.Г., Хлесткина Е.К., Кочетов А.В., 2025

## Brief communication

DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-04

## On the Anniversary of the Academician of the National Academy of Sciences of Belarus Alexander Vladimirovich Kilchevsky

Olga G. Babak<sup>1</sup>, Elena K. Khlestkina<sup>2,3,4</sup>, Alexey V. Kochetov<sup>3,4</sup><sup>1</sup>Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus<sup>2</sup>N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia<sup>3</sup>Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia<sup>4</sup>Vavilov Society of Geneticists and Breeders, Novosibirsk, Russia**Corresponding author:** Olga G. Babak, O.Babak@igc.by

Alexander Vladimirovich Kilchevsky, Doctor of Biological Sciences, Professor, Honored Scientist of the Republic of Belarus, Chairman of the Belarusian Society of Geneticists and Breeders, laureate of the Prizes of the National Academy of Sciences of Belarus and the Union State Prize, Academician of the National Academy of Sciences (NAS) of Belarus, a talented scientist in the field of genetics and biotechnology, known in the country and abroad, the leader of the Belarusian scientific school in the field of genetics, genomics, biotechnology and plant breeding, Deputy Chairman of the Presidium of the NAS of Belarus, turned 70 on August 17, 2025. He was the first in the country to create the Department of Biotechnology and the Biotechnology Center at the Belarusian State Agricultural Academy; identified the main patterns of genotype-environment relationships that manifest themselves at different stages of breeding; developed principles and methods of ecological plant breeding using modern biotechnological approaches aimed at creating highly productive and environmentally sustainable plant varieties, and methods for marker-assisted selection of nightshade vegetable crops; co-authored creation of 79 plant varieties regionally adapted in Belarus, including 57 tomato and 18 pepper varieties. The results of his scientific activities have been published in more than 800 scientific papers, including 10 monographs, four books, and textbooks. Under the supervision of A.V. Kilchevsky, four doctoral and 22 candidate scientific papers were defended; also, the National Coordination Center for Biosafety, the Republican Center for Genomic Biotechnology, the Republican DNA Bank of Humans, Animals, Plants, and Microorganisms, and the Republican Center for Microbiome Research were established. His achievements are recognized both in the country and abroad. Academician A.V. Kilchevsky is a member of the Presidium of the Higher Attestation Commission of the Republic of Belarus, a member of the Board of the Foundation for Fundamental Research of the Republic of Belarus, an Honorary Doctor of the Belarusian State Agricultural Academy, an Honorary Professor of the University of Warmia and Mazury in Olsztyn, and an Honorary Member of the European Biotechnology Association. Alexander Vladimirovich has been awarded the Francysk Skaryna Medal, the Medal of the National Academy of Sciences of Belarus "For Achievements in Science," the I.V. Kurchatov Medal, 1st Class, and the N.I. Vavilov Medal, as well as certificates of honor from national and international agencies.

**Keywords:** ecological plant genetics, plant genomics and biotechnology, marker-assisted selection, Solanaceae vegetable crops, molecular marking technologies, breeding achievements.

**For citation:** Babak O.G., Khlestkina E.K., Kochetov A.V. On the Anniversary of the Academician of the National Academy of Sciences of Belarus Alexander Vladimirovich Kilchevsky. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2025;8(3):65-75. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-04

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

© Babak O.G., Khlestkina E.K., Kochetov A.V., 2025

Александр Владимирович Кильчевский – известный ученый в области генетики, геномики, биотехнологии и селекции растений (рис. 1).

Его научная и научно-педагогическая деятельность начиналась в Белорусской государственной сельскохозяйственной академии (БГСХА), которую он успешно закончил в 1977 году. Работая с 1978 по 1988 год на кафедре плодовоовощеводства (ассистент, старший преподаватель, доцент кафедры) А.В. Кильчевский занимался изучением основных закономерностей взаимоотношений генотип-среда, проявляющихся на разных этапах селекции; разработкой концепции базового комплекса сред для селекции растений. Важное место в исследованиях занимали вопросы, связанные с разработкой методов селекции для повышения продуктивности гибридов томата, оценкой общей и специфической комбинационной способности исходных форм (Kilchevsky, Khotyleva, 1985). В 1982 году он защитил под руководством академика Л.В. Хотылевой кандидатскую диссертацию на тему «Эффективность первого цикла реципрокного периодического отбора у томатов» (Kilchevsky, 1982). В 1988 году создал и возглавил в БГСХА первую в стране кафедру биотехнологии и биотехнологический центр. Активно развивая деятельность кафедры и биотехнологического центра, Александр Владимирович руководил работой созданного им коллектива и исследованиями по оптимизации основных этапов микроклонального размножения сортов растений (картофель, томаты, голубика, земляника, декоративные культуры); по разработке методов гаметной селекции томатов на устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам; по созданию эффективной системы семеноводства гибридов томата, основанной на функциональной мужской стерильности (ФМС); по дальнейшему изучению и развитию способов оценки адаптивной способности и стабильности генотипов растений, дифференцирующей способности среды. В 1994 году Александр Владимирович защитил докторскую диссертацию на тему «Взаимодействие генотипа и среды в селекции растений (на примере овощных культур и картофеля)» во Всероссийском научно-исследовательском институте растениеводства имени Н.И. Вавилова (Kilchevsky, 1993). Исследования, проводимые на кафедре биотехнологии в растениеводстве БГСХА, внесли важный вклад в разработку принципов и методов экологической селекции растений с использованием современных биотехнологических подходов, направленных на создание высокопродуктивных и экологически устойчивых сортов растений (Smiryaev et al., 1992; Kilchevsky, Khotyleva, 1997; Pivovarov et al., 2005). Впервые выполнено комплексное изучение генетики накопления поллютантов (нитраты, тяжелые металлы, радионуклиды) овощными культурами, показана возможность создания гибридов с уменьшенным (в 2-5 раз) накоплением поллютантов. Выполнены исследования для выяснения генетических основ энергоэффективности сортов, что позволило создать концептуальные модели сортов растений,

к которым применимы технологии с различным уровнем энергетических вложений (Kilchevsky, 2005). Наряду с научной деятельностью Александр Владимирович, как заведующий кафедрой, уделял большое внимание организации учебного процесса. В 2004 году при активном его участии в БГСХА была открыта новая специальность «Экология сельского хозяйства». Был издан ряд научных, методических работ и учебников (Kilchevsky et al., 2001; Kartel, Kilchevsky, 2005; Kilchevsky, 2005; Kilchevsky, Skorina, 2005). Сотрудничество с БГСХА в области генетики и селекции пасленовых культур продолжается и в настоящее время.

В период с 2004 по 2014 год А.В. Кильчевский являлся директором Института генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси (ИГиЦ НАН Беларуси). Под его руководством проводились широкомасштабные молекулярно-генетические исследования хозяйственно-ценных признаков сельскохозяйственных растений с целью вовлечения в селекционный процесс в качестве исходного материала (Pydiura et al., 2015; Sysolyatin et al., 2015; Adzhieva et al., 2016; Orlovskaya et al., 2023); выполнен ряд проектов, результатом которых стали разработанные методы генетической паспортизации сортов растений на основе молекулярных маркеров (мягкая пшеница, картофель, томаты, лен, сахарная свекла и др.) (Malyshev et al., 2006); проведены исследования по сравнительной геномике пасленовых культур, таких как томаты, перец, баклажаны, физалис, что позволило выявить особенности гомологической изменчивости по ряду признаков на молекулярном уровне (Babak et al., 2019). Разработаны методы маркер-ориентированной селекции, которые успешно применены на практике к таким культурам, как томаты, перец, люпин, капуста, кукуруза, сахарная свекла, картофель (Babak et al., 2023), разработаны методические подходы к оценке качества пищевой, фармакологической и сельскохозяйственной продукции (Dromashko et al., 2017; Khotyleva et al., 2021). Важным результатом его работы в этот период явилось издание четырехтомной коллективной монографии «Генетические основы селекции растений», где представлены суммарные итоги работы генетиков, биотехнологов и селекционеров Беларуси (Kilchevsky, Khotyleva, 2012; 2014; 2018; 2020).

Яркой демонстрацией селекционных достижений А.В. Кильчевского являются созданные в соавторстве 79 районированных в Беларуси сортов растений, среди которых 57 сортов томата и 18 сортов перца, один сорт баклажана, один сорт чеснока озимого, один сорт капусты белокочанной, один сорт люпина. Возглавляя научную школу по генетике, селекции и биотехнологии, он подготовил четырех докторов и 22 кандидатов наук.

В период работы в институте наряду с исследованиями растительных объектов, научный интерес А.В. Кильчевского был сосредоточен на проблемах генетики человека. Разрабатывались и апробировались методы молекулярного маркирования, связанные с признаками, определяющими потенциальные возможности челове-

ка для занятий тем или иным видом спорта, признаков, связанных с развитием ряда заболеваний органов дыхания, выполнялись проекты по изучению микробиома организма и его связи с генотипом человека (Kilchevsky, Yankovsky, 2021; Kilchevsky et al., 2022; Mikhalenko et al., 2022; Mikhalenka et al., 2023). Результатами данных исследований, выполненных совместно с медицинскими учреждениями Беларуси, стал ряд методических разработок, внедренных в практическое здравоохранение.

В настоящее время Александр Владимирович является руководителем и соруководителем восьми научных проектов, выполняемых в рамках государственных научно-исследовательских и научно-технических программ. Большое внимание А.В. Кильчевский уделяет сотрудничеству в области генетики и биотехнологии между белорусскими и российскими научными организациями, он являлся руководителем с белорусской стороны следующих программ и проектов: «ДНК-идентификация» – программы Союзного государства, «Молекулярно-генетические механизмы формирования окраски овощных и злаковых культур» – интеграционного проекта между НАН Беларуси и Сибирским отделением РАН, билатеральных проектов Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (БРФФИ) НАН Беларуси с Российским фондом фундаментальных исследований (РФФИ): «Изучение механизма интеграции митохондриального цитохрома P450scs (CYP11A1) животных в стероидогенную систему растений и его влияния на физиологию, размножение и иммунитет» и «Прогестеро-

новая система гормональной регуляции у высших растений: характеристика основных компонентов и биологическая роль» совместно с Институтом биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (ИБХ РАН, Москва); «Изучение генетических механизмов регуляции накопления антоцианов и каротиноидов у овощных пасленовых и капустных культур», ВИР (Санкт-Петербург). Александр Владимирович поддерживает тесное взаимодействие между Белорусским обществом генетиков и селекционеров (БОГиС, Республика Беларусь), которое возглавляет, и Вавиловским обществом генетиков и селекционеров (ВОГиС, Россия), активно участвует в ключевых мероприятиях ВОГиС, например: в работе пленума ВОГиС (2015, Санкт-Петербург, рис. 2), съездов ВОГиС с приглашенными пленарными лекциями – «Генетика в Республике Беларусь: перспективы сотрудничества с Российской Федерацией» – пленарная лекция на VI Съезде ВОГиС (2014, Ростов-на-Дону; рис. 3); «Развитие генетических исследований в Беларуси» – пленарная лекция на VIII Съезде ВОГиС (2024, Саратов).

Особый талант А.В. Кильчевского как руководителя проявился в создании в ИГиЦ НАН Беларуси Центра коллективного пользования «Геном» (2010), Республиканского центра геномных биотехнологий (2011); Республиканского банка ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов (2013, с 2016 года – национальное достояние Республики Беларусь), Республиканского центра изучения микробиома (2021).



**Рис. 1. Академик А.В. Кильчевский.**  
Фото из архива НАН Беларуси.

**Fig. 1. Academician A.V. Kilchevsky.**  
Photo from the archives of the National Academy of Sciences of Belarus



В период с 2014 по 2019 год А.В. Кильчевский находился на должности главного ученого секретаря НАН Беларуси, с 2019 года по настоящее время работает в должности заместителя председателя президиума НАН Беларуси (рис. 5). При этом он продолжает работу в качестве главного научного сотрудника ИГиЦ НАН Беларуси (рис. 4).

Александр Владимирович ведет большую научно-организационную и общественную работу; он участвовал в разработке и руководстве ряда государственных программ по биотехнологии и геномике, Программы Союзного государства «ДНК-идентификация», является членом Бюро и Президиума НАН Беларуси, членом Президиума ВАК РБ, членом комиссии по вопросам государственной научно-технической политики при Совете Министров Республики Беларусь, заместителем председателя комиссии по противодействию коррупции в НАН

Беларуси, председателем БОГиС, национальным координатором Европейской биотехнологической ассоциации, главным редактором журнала «Молекулярная и прикладная генетика», членом редколлегий и редакционных советов ряда журналов, в том числе ведущих журналов в области генетики, молекулярной биологии и биотехнологии на территории Союзного государства: «Генетика», «Вавиловский журнал генетики и селекции», «Экологическая генетика», «Биохимия и молекулярная биология», «Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции», «Биотехнология и селекция растений».

Научные заслуги А.В. Кильчевского признаны как в стране, так и за рубежом. Он является автором более 800 научных работ, в том числе 10 монографий, четырех книг и учебников. Академик А.В. Кильчевский – член Президиума Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь, член правления Фонда фундамен-



**Рис. 2. Участники Пленума Центрального Совета ВОГиС и научного Совета по генетике и селекции РАН в Санкт-Петербурге, 27 июня 2015 года.**

Стоят: 7-й слева – Президент ВОГиС И.А. Тихонович (2014–2024), 11-й слева – Председатель БОГиС (Республика Беларусь) А.В. Кильчевский, 4-й справа – Почетный президент ВОГиС С.Г. Инге-Вечтомов.  
Фото из архива ВОГиС.

**Fig. 2. Participants of the Plenum of the Central Council of Vavilov Society of Geneticists and Breeders (VOGiS) and the Scientific Council for Genetics and Breeding of the Russian Academy of Sciences in St. Petersburg, June 27, 2015.**

Standing: 7th from left – VOGiS President I.A. Tikhonovich (2014–2024); 11th from left – Chairman of Belarus Society of Geneticists and Breeders (BOGiS, Republic of Belarus) A.V. Kilchevsky; 4th from right – VOGiS Honorary President S.G. Inge-Vechtomov.  
Photo from the VOGiS archive.

тальных исследований Республики Беларусь, почетный доктор БГСХА (2015), почетный профессор Варминско-Мазурского университета в Ольштыне (2011), почетный член Европейской биотехнологической ассоциации (2024). Александр Владимирович награжден медалью Франциска Скорины (2014), «Знаком Почёта» – «Signum Honoris» – в рамках международной исследовательской программы bioDISCOVERY (2016), Серебряной медалью НАН Беларуси «За достижения в науке» (2020), медалью имени академика И. В. Курчатова (2024), медалью имени академика Н. И. Вавилова (2025), Большой медалью Международной ассоциации академий наук «За сотрудничество и развитие науки» (2025), Большой медалью НАН Беларуси (2025), Почетной грамотой Совета Министров Республики Беларусь (2011), Почетной грамотой Президиума объединенного комитета профсоюзной организации работников НАН Беларуси (2020), Грамотой Международной ассоциации академий наук (2022), Дипломом

Посольства Китайской Народной Республики в Республике Беларусь (2024), объявлена Благодарность Президента Республики Беларусь (2017). Академик А.В. Кильчевский – лауреат Премий НАН Беларуси: за цикл работ «Разработка принципов и методов экологической селекции растений» (1999), за многотомное издание «Генетические основы селекции растений» (2015); лауреат Премии союзного государства за разработку инновационных геногеографических и геномных особенностей человека на основе изучения генофондов регионов Союзного государства (2023; рис. 6). В 2024 году ему присвоено звание «Заслуженный деятель науки Республики Беларусь» (рис. 7).

От генетиков и селекционеров России и Республики Беларусь сердечно поздравляем Александра Владимировича с юбилеем, желаем крепкого здоровья, неиссякаемой энергии и дальнейших творческих успехов на благо Беларуси, Союзного государства и мировой науки!



**Рис. 3. Участники VI съезда ВОГиС (Ростов-на-Дону, 2014).**

Фото слева: стоят в первом ряду (слева направо): Почетный президент ВОГиС С.Г. Инге-Вечтомов, Председатель Белорусского общества генетиков и селекционеров А.В. Кильчевский, вице-президент ВОГиС Н.К. Янковский.

Фото справа: А.В. Кильчевский приветствует участников VI съезда ВОГиС на открытии Съезда. Фото из архива ВОГиС.

**Fig. 3. Participants of the 6th Congress of VOGiS (Rostov-on-Don, 2014).**

Left photo: Standing, front row (left to right): Honorary President of VOGiS S.G. Inge-Vechtomov, Chairman of the Belarusian Society of Geneticists and Breeders A.V. Kilchevsky, Vice President of VOGiS N.K. Yankovsky.

Right photo: A.V. Kilchevsky greets participants of the 6th Congress of VOGiS at the opening of the Congress. Photo from the VOGiS archives.





**Рис. 4. А.В. Кильчевский в теплице Биологической опытной станции ИГиЦ НАН Беларуси по испытанию селекционных форм томата, 2019 год.**

**Fig. 4. A.V. Kilchevsky in the greenhouse for testing tomato breeding forms at the Biological Experiment Station of the Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, 2019.**



**Рис. 5. Академик А.В. Кильчевский выступает на Международной научно-практической конференции в НАН Беларуси. Минск, 2021 год.**

**Fig. 5. Academician A.V. Kilchevsky speaks at the International Scientific and Practical Conference at the National Academy of Sciences of Belarus. Minsk, 2021.**



**Рис. 6. Академик А.В. Кильчевский в кругу белорусских и российских коллег, Лауреатов Премии союзного государства, 2023 год.**

Фото из архива БОГиС, Республика Беларусь.

**Fig. 6. Academician A.V. Kilchevsky among his Belarusian and Russian colleagues, laureates of the Union State Prize, 2023.**

Photo from the archives of the Belarusian Society of Geneticists and Breeders.



**Рис. 7. Поздравление А.В. Кильчевского Президентом Республики Беларусь с присвоением звания «Заслуженный деятель науки Республики Беларусь», 2024 год.**

Фото из архива НАН Беларуси.

**Fig. 7. Congratulations to A.V. Kilchevsky from the President of the Republic of Belarus on receiving the title of the "Honored Scientist of the Republic of Belarus", 2024.**

Photo from the archives of the National Academy of Sciences of Belarus.



## References/Литература

- 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. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. 2016;6(5):537-552. DOI: 10.1134/S2079059716050026
- Babak O.G., Nekrashevich N.A., Anisimova N.V., Drozd E.V., Yatsевич K.K., Kilchevsky A.V. Technology of marker-assisted selection of tomato forms with high biochemical and technological properties of fruits: methodological recommendations (Tekhnologiya marker-soputstvuyushchego otbora form tomata s vysokimi biokhimicheskimi i tekhnologicheskimi svoystvami plodov: metodicheskiye rekomendatsii). Minsk: Law and Economics; 2023. [in Russian] (Баба́к О.Г., Некрашевич Н.А., Анисимова Н.В., Дрозд Е.В., Яцевич К.К., Кильчевский А.В. Технология маркер-сопутствующего отбора форм томата с высокими биохимическими и технологическими свойствами плодов: методические рекомендации. Минск: Право и экономика; 2023).
- Babak O.G., Nekrashevich N.A., Nikitinskaya T.V., Yatsевич K.K., Kilchevsky A.V. Study of the Myb-factor polymorphism based on comparative genomics of vegetable Solanaceae crops (tomato, pepper, eggplant) to search for DNA markers that differentiate samples by the anthocyanins accumulation. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*. 2019;63(6):721-729. [in Russian] (Баба́к О.Г., Некрашевич Н.А., Никитинская Т.В., Яцевич К.К., Кильчевский А.В. Изучение полиморфизма генов Мyb-факторов на основе сравнительной геномики овощных пасленовых культур (томат, перец, баклажан) для поиска ДНК-маркеров, дифференцирующих образцы по накоплению антоцианов. Доклады Национальной академии наук Беларуси. 2019;63(6):721-729). DOI: 10.29235/1561-8323-2019-63-6-721-729
- Dromashko S.E., Makeeva E.N., Lebedeva A.M., Mozgova G.V., Babak O.G., Kilchevsky A.V., Lemesh V.A., Zheleznova T.V., Kholmetskaya M.O. Biological safety: modern methodological approaches to assessing the quality of food, pharmacological and agricultural products (Biologicheskaya bezopasnost': sovremennyye metodicheskiye podkhody k otsenke kachestva pishchevoy, farmakologicheskoy i sel'skokhozyaystvennoy produktii). 2-nd ed., corrected and enlarged. Minsk: Belaruskaya navuka; 2017. [in Russian] (Дромашко С.Е., Макеева Е.Н., Лебедева А.М., Мозгова Г.В., Баба́к О.Г., Кильчевский А.В., Лемеш В.А., Железнова Т.В., Холмещкая М.О. Биологическая безопасность: современные методические подходы к оценке качества пищевой, фармакологической и сельскохозяйственной продукции. 2-е изд., испр. и доп. Минск: Беларуская навука; 2017).
- Kartel N.A., Kilchevsky A.V. Biotechnology in plant growing: [textbook] (Biotechnologiya v rasteniyevodstve: [uchebnik]). Minsk: Tekhnologiya; 2005. [in Russian] (Картель Н.А., Кильчевский А.В. Биотехнология в растениеводстве: [учебник]. Минск: Тэхналогія; 2005).
- Khotyleva L.V., Kilchevsky A.V., Shapurenko M.N., Tarutina L.A., Titok V.V. Genetic basis of heterosis (Geneticheskiye osnovy geterozisa). Minsk: Belarusian Science; 2021. [in Russian] (Хотылева Л.В., Кильчевский А.В., Шапуренко М.Н., Тарутина Л.А., Титок В.В. Генетические основы гетерозиса. Минск: Беларуская навука; 2021).
- Kilchevsky A.V. Efficiency of the first cycle of reciprocal periodic selection in tomatoes (Effektivnost' pervogo tsikla retsiproknogo periodicheskogo otbora u tomatov) [dissertation]. Gorki; 1982. [in Russian] (Кильчевский А.В. Эффективность первого цикла реципрокного периодического отбора у томатов: автореф. дис. канд. биол. наук. Горки; 1982).
- Kilchevsky A.V. Genotype – environment interaction in plant breeding (using vegetable crops and potatoes as an example) (Vzaimodeystviye genotipa i sredy v selektsii rasteniy (na primere ovoshchnykh kul'tur i kartofelya)) [dissertation]. St. Petersburg: VIR; 1993. [in Russian] (Кильчевский А.В. Взаимодействие генотипа и среды в селекции растений (на примере овощных культур и картофеля): автореф. дис. д-ра биол. наук. Санкт-Петербург: ВИР; 1993).
- Kilchevsky A.V. Genetic and ecological bases of plant breeding. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2005;9(4):518-526. [in Russian] (Кильчевский А.В. Генетико-экологические основы селекции растений. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2005;9(4):518-526).
- Kilchevsky A.V., Chernukha G.A., Vorobyova E.P., Nikonovich T.V., Lazarevich N.V., Lalomova T.V., Ermolenkov V.V. Fundamentals of agricultural ecology and radiation safety (Osnovy sel'skokhozyaystvennoy ekologii i radiatsionnaya bezopasnost'). Minsk: Uradzhai; 2001. [in Russian] (Кильчевский А.В., Чернуха Г.А., Воробьева Е.П., Никонович Т.В., Лазаревич Н.В., Лаломова Т.В., Ермоленков В.В. Основы сельскохозяйственной экологии и радиационная безопасность. Минск: Ураджай; 2001).
- Kilchevsky A.V., Khotyleva L.V. (eds). Genetic basis of plant breeding (Geneticheskiye osnovy selektsii rasteniy). In 4 volumes. Vol. 1. 2nd ed. Minsk: Belaruskaya navuka; 2018. [in Russian] (Генетические основы селекции растений. В 4 томах. Т. 1/ науч. ред. А.В. Кильчевский, Л.В. Хотылева. 2-ое изд. Минск: Беларуская навука; 2018).
- Kilchevsky A.V., Khotyleva L.V. (eds). Genetic basis of plant breeding (Geneticheskiye osnovy selektsii rasteniy). In 4 volumes. Vol. 2. 2nd ed. Minsk: Belaruskaya navuka; 2020. [in Russian] (Генетические основы селекции растений. В 4 томах. Т. 2/ науч. ред. А.В. Кильчевский, Л.В. Хотылева. 2-ое изд. Минск: Беларуская навука; 2020).
- Kilchevsky A.V., Khotyleva L.V. (eds). Genetic basis of plant breeding (Geneticheskiye osnovy selektsii rasteniy). In 4 volumes. Vol. 3. Minsk: Belaruskaya navuka; 2012. [in Russian] (Генетические основы селекции растений. В 4 томах. Т. 3/ науч. ред. А.В. Кильчевский, Л.В. Хотылева. Минск: Беларуская навука; 2012).
- Kilchevsky A.V., Khotyleva L.V. (eds). Genetic basis of plant breeding (Geneticheskiye osnovy selektsii rasteniy). In 4 volumes. Vol. 4. Minsk: Belaruskaya navuka; 2014. [in Russian] (Генетические основы селекции растений. В 4 томах. Т. 4/ науч. ред. А.В. Кильчевский, Л.В. Хотылева. Минск: Беларуская навука; 2014).
- Kilchevsky A.V., Khotyleva L.V. A method for estimation of genotypes adaptive ability and stability, of environment's differentiative ability. II. Numerical model and discussion. *Genetika*. 1985;21(9):1491-1498. [in Russian] (Кильчевский А.В., Хотылева Л.В. Метод оценки адаптивной способности и стабильности генотипов, дифференцирующей способности среды. Сообщение II. Числовой пример и обсуждение. Генетика. 1985;21(9):1491-1498).
- Kilchevsky A.V., Khotyleva L.V. Ecological plant breeding (Ekologicheskaya selektsiya rasteniy). Minsk: Tekhnologiya; 1997. [in Russian] (Кильчевский А.В., Хотылева Л.В. Экологическая селекция растений. Минск: Тэхналогія; 1997).
- Kilchevsky A.V., Mikhalevich E.P., Mazur O.Ch., Malysheva O.M. Using whole-exome sequencing for diagnosing complex cases in pediatrics (Ispol'zovaniye polnoekzomnogo sekvenirovaniya dlya diagnostiki slozhnykh sluchayev v pediatrii). *Nauka i tekhnologii Sibiri = Science and Technologies of Siberia*. 2022;4(7):31-34. [in Russian] (Кильчевский А.В., Михаленко Е.П., Мазур О.Ч., Малышева О.М. Использование полноэкзомного секвенирования для диагностики сложных случаев в педиатрии. Наука и технологии Сибири. 2022;4(7):31-34).
- Kilchevsky A.V., Skorina V.V. Selection of heterotic tomato hybrids (Selektsiya geterozisnykh gibridov tomata). Minsk; 2005 [in Russian] (Кильчевский А.В., Скорина В.В. Селекция гетерозисных гибридов томата. Минск; 2005).
- Kilchevsky A.V., Yankovsky N.K. Developing the innovative gene geographical and genomic technologies for identification and revealing the personal features by studying the gene pools of the regional populations. *Russian Journal of Genetics*. 2021;57(12):1361-1369. DOI: 10.1134/S1022795421120073
- Malyshev S.V., Urbanovich O.Yu., Kartel N.A. Identification and certification of crop varieties (common wheat, potato, tomato, flax and beetroot) based on DNA markers: Guidelines (Identifikatsiya i pasportizatsiya sortov sel'skokhozyaystvennykh



- kultur (myagkoj pshenitsy, kartofelya, tomata, lna i svely) na osnove DNK-markerov: metodicheskiye ukazaniya. Minsk: Institut genetiki i tsitologii NAN Belarusi). Minsk: Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus; 2006. [in Russian] (Малышев С.В., Урбанович О.Ю., Карпель Н.А. Идентификация и паспортизация сортов сельскохозяйственных культур (мягкой пшеницы, картофеля, томата, льна и сахарной свеклы) на основе ДНК-маркеров: методические указания. Минск: Институт генетики и цитологии НАН Беларуси; 2006).
- Mikhalenko A.P., Shchayuk A.N., Nikitinskaya T.V., Paliukhovich Yu.V., Kubrak S.V., Shapetska M.N., Kilchevsky A.V. Determining the methylation status of the promoter regions of *MARCH11*, *HOXA9*, *PTGDR*, and *UNCX* genes in patients with non-small cell lung cancer. *Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus = Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi*. 2023;67(4):300-306. [in Russian] (Михаленко Е.П., Щаюк А.Н., Никитинская Т.В., Полюхович Ю.В., Кубрак С.В., Шепетько М.Н., Кильчевский А.В. Определение статуса метилирования промоторных областей генов *MARCH11*, *HOXA9*, *PTGDR* и *UNCX* у пациентов с немелкоклеточным раком легкого. Доклады Национальной академии наук Беларуси. 2023;67(4):300-306). DOI: 10.29235/1561-8323-2023-67-4-300-306
- Mikhalenko E.P., Guzenko E.V., Kilchevsky A.V. Microbiome Research Center: Fundamental and Applied Research. *Science and Innovation = Nauka i innovatsii*. 2022;8(234): 27-31. [in Russian] (Михаленко Е.П., Гузенко Е.В., Кильчевский А.В. Центр изучения микробиома: фундаментальные и прикладные исследования. Наука и инновации. 2022;8(234):27-31).
- Orlovskaya O.A., Vakula S.I., Yatsevich K.K., Khotyleva L.V., Kilchevsky A.V. Effect of *NAM-I* genes on the protein content in grain and productivity indices in common wheat lines with foreign genetic material introgressions in the conditions of Belarus. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;27(3):197-206. [in Russian] (Орловская О.А., Вакула С.И., Яцевич К.К., Хотылева Л.В., Кильчевский А.В. Влияние генов *NAM-I* на содержание белка в зерне и показатели продуктивности у линий мягкой пшеницы с интрогрессиями чужеродного генетического материала в условиях Беларуси. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2023;27(3):197-206). DOI: 10.18699/VJGB-23-26
- Pivovarov V.F., Dobrutska E.G., Soldatenko A.V., Krivenkov L.V., Sychev S.M., Skorina V.V., Kilchevsky A.V., Lyapunov S.M., Gorbunov A.V., Iylyev A.I., Gins V.K., Shirokova E.A. Recommendations for reducing the content of radionuclides in the commercial part of the yield of vegetable and spice crops (ecological selection, technological methods) (Rekomendatsii po snizheniyu soderzhaniya radionuklidov v tovarnoy chasti urozhaya ovoshchnykh i pryano-vkusovykh kul'tur (ekologicheskaya selektsiya, tekhnologicheskiye sposoby)). Moscow; 2005. [in Russian] (Пивоваров В.Ф., Добруцкая Е.Г., Солдатенко А.В., Кривенков Л.В., Сычев С.М., Скорина В.В., Кильчевский А.В., Ляпунов С.М., Горбунов А.В., Ивлиев А.И., Гинс В.К., Широкова Е.А. Рекомендации по снижению содержания радионуклидов в товарной части урожая овощных и пряно-вкусовых культур (экологическая селекция, технологические способы). Москва; 2005).
- Pydiura N.A., Bayer G.Y., Galinovsky D.V., Yemets A.I., Pirkov Y.V., Padvitski T.A., Anisimova N.V., Khotyleva L.V., Kilchevsky A.V., Blume Y.B. Bioinformatic search for cellulose synthase genes in flax (*Linum usitatissimum*) and their phylogenetic analysis. *Cytology and Genetics*. 2015;49(5):279-287. DOI: 10.3103/S0095452715050084
- Smiryaev A.V., Martynov S.P., Kilchevsky A.V. Biometrics in Plant Genetics and Breeding (Biometriya v genetike i selektsii rasteniy). Moscow: MSHA; 1992. [in Russian] (Смиряев А.В., Мартынов С.П., Кильчевский А.В. Биометрия в генетике и селекции растений. Москва: МСХА; 1992).
- Sysolyatin E.N., Anokhina V.S., Anisimova N.V., Babak O.G., Kilchevsky A.V. Genetic typing of economically important traits of blue lupine (*Lupinus angustifolius* L.) samples. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, Biological Series*. 2015;(4):44-50. [in Russian] (Сысолятин Е.Н., Анохина В.С., Анисимова Н.В., Бабак О.Г., Кильчевский А.В. Генетическое типирование образцов люпина узколистного (*Lupinus angustifolius* L.) по хозяйственно ценным признакам. Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук. 2015;(4):44-50).

## Информация об авторах

**Ольга Геннадьевна Бабак**, кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, лаборатория экологической генетики и биотехнологии, Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, 220072 Республика Беларусь, Минск, ул. Академическая, 27, O.Babak@igc.by, babak\_olga@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1087-9472>

**Елена Константиновна Хлесткина**, доктор биологических наук, профессор РАН, член-корреспондент РАН, директор, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44; вице-президент, Вавиловское общество генетиков и селекционеров (ВОГиС), 630090 Россия, Новосибирск, director@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8470-8254>

**Алексей Владимирович Кочетов**, доктор биологических наук, академик РАН, директор, Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, 630090, Россия, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10; президент, Вавиловское общество генетиков и селекционеров (ВОГиС), 630090 Россия, Новосибирск, ak@bionet.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3151-5181>

## Information about the authors

**Olga G. Babak**, Cand. Sci. (Biology), Assistant Professor, Leading Researcher, Laboratory of Ecological Genetics and Biotechnology, Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, 27, Akademicheskaya Street, Minsk, 220072 Republic of Belarus, o.babak@igc.by, <https://orcid.org/0000-0002-1087-9472>

**Elena K. Khlestkina**, Dr. Sci. (Biology), Professor of the Russian Academy of Sciences, Corr. Member of the of the Russian Academy of Sciences, Director, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia; Vice President, Vavilov Society of Geneticists and Breeders (VOGiS), Novosibirsk, 630090 Russia, director@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8470-8254>

**Alexey V. Kochetov**, Dr. Sci. (Biology), Academician of the Russian Academy of Sciences, Director, Institute of Cytology and Genetics SB RAS, 630090, Russia, Novosibirsk, Academician Lavrentiev Avenue, 10; President, Vavilov Society of Geneticists and Breeders (VOGiS), Novosibirsk, 630090 Russia, ak@bionet.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3151-5181>

---

**Вклад авторов:** все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

**Contribution of the authors:** the authors contributed equally to this article.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interests:** the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 18.08.2025; одобрена после рецензирования 08.09.2025; принята к публикации 22.09.2025.

The article was submitted on 18.08.2025; approved after reviewing on 08.09.2025; accepted for publication on 22.09.2025.

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

4 номера в год (ежеквартально) / Publication frequency: Quarterly

<https://biosel.elpub.ru>; e-mail: [pbi@vir.nw.ru](mailto:pbi@vir.nw.ru)

Языки: русский, английский / Languages: Russian, English

Индексируется в РИНЦ (НЭБ), DOAJ, AGRIS, входит в перечень изданий, публикации которых учитываются Высшей аттестационной комиссией России (ВАК РФ) при защите диссертаций на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук / Indexed/abstracted by the Russian Science Citation Index on eLIBRARY.RU platform, DOAJ, AGRIS, included in the list of publications recognized by the Russian Higher Attestation Commission (VAK RF) when candidate and doctoral dissertations are defended.

Открытый доступ к полным текстам / Open access to full texts:

<https://biosel.elpub.ru>

<http://www.vir.nw.ru/pbi/>

[https://www.elibrary.ru/title\\_about\\_new.asp?id=69575](https://www.elibrary.ru/title_about_new.asp?id=69575)

Требования к статьям и правила рецензирования, электронный архив в открытом доступе и иная дополнительная информация размещены на сайте журнала <https://biosel.elpub.ru> / Full information for authors, reviewers, and readers (open access to electronic versions and subscription to print editions) can be found at <https://biosel.elpub.ru>

Прием статей через электронную редакцию на сайте журнала <https://biosel.elpub.ru>. Предварительно необходимо зарегистрироваться как автору, затем в правом верхнем углу страницы выбрать «Отправить рукопись». После завершения загрузки материалов обязательно выбрать опцию «Отправить письмо», в этом случае редакция автоматически будет уведомлена о получении новой рукописи / Manuscripts are accepted via the online editing resource at the Journal's website <https://biosel.elpub.ru>. The sender needs to register as the author and select in the upper righthand corner "Send a manuscript". After the loading of the materials, the option "Send a letter" is to be chosen, so that the editors would be automatically informed that a new manuscript has been received.

Научный редактор: *д.б.н. Е.И. Михайлова*

Переводчик: *С.В. Шувалов*

Корректоры: *С.В. Шувалов, И.В. Котелкина*

Компьютерная верстка: *Г.К. Чухин*

**Адрес редакции:**

Россия, 190000, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, д. 42  
Тел.: (812) 314-49-14; e-mail: [pbi@vir.nw.ru](mailto:pbi@vir.nw.ru); [i.kotielkina@vir.nw.ru](mailto:i.kotielkina@vir.nw.ru)

**Почтовый адрес редакции**

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

Подписано в печать 26.09.2025.

Дата выхода в свет 30.09.2025.

Формат 70×100<sup>1</sup>/<sub>8</sub>

Бумага офсетная. Печать офсетная.

Печ. л. 9,5. Тираж 30 экз. Заказ № 386/3. Бесплатно.

Издатель: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«Федеральный исследовательский центр

Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» (ВИР),  
редакционно-издательский сектор ВИР

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

Отпечатано: ООО «Р-ПРИНТ»

Адрес: 190121, г. Санкт-Петербург, вн. тер. г. Муниципальный  
Округ Коломна,  
пер. Дровяной, д. 5, литера А, помещ. 1-Н



БИОТЕХНОЛОГИЯ  
И СЕЛЕКЦИЯ  
РАСТЕНИЙ

8(3), 2025