^{1,2}О. В. Мочалова, ВНС, д. б. н.,

²И. В. Ершова, ВНС, к. б. н.,

²Т. В. Плаксина, ВНС, к. с.-х. н.,

²Т. Е. Бояндина, НС, к. с.-х. н.,

²Д. А. Гусев, НС

ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий», г. Барнаул

¹mochalov.olga@yandex.ru, ²niilisavenko1@yandex.ru

УДК 575.2:631.527:634.23

DOI 10.31676/2073-4948-2018-55-38-45

ГЕНЕТИКО-СЕЛЕКЦИОННЫЕ ПУТИ СОХРАНЕНИЯ И РАСШИРЕНИЯ ГЕНОФОНДА ВИШНИ СТЕПНОЙ (*PRUNUS FRUTICOSA* PALL.): КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД

Резюме. В настоящее время на фоне ухудшения экологической обстановки, увеличения частоты опасных грибных эпифитотий и изменения климата российский генофонд вишни зачастую не отвечает современным требованиям производства. Одним из самых значительных в России можно считать накопленный и сохраненный алтайский генофонд вишни степной. Он имеет давнюю историю создания и сегодня насчитывает 6 дикорастущих видов, более 100 сортообразцов и 4070 гибридов из 255 семей. Выделены генетические источники ценных селекционных признаков, в том числе включающие 18 генетических продуцентов нередуцированных гамет. Постоянно пополняются и поддерживаются коллекции из 40 естественных и 8 амитотических полиплоидов, созданных через культуру *in vitro*. В перспективе ожидается перевод культуры вишни степной на новый гексаплоидный уровень ($2n = 48$). Для сохранения и расширения имеющегося оригинального генофонда и для его успешного использования в селекции необходим комплексный методический подход. Авторами статьи предложена усовершенствованная схема селекционного процесса, включающая: привлечение новых дикорастущих восточноазиатских генетических источников (*P. incisa* Thunb., *P. canescens* Bois., *P. serrulata* Lindl.), отдаленную гибридизацию, полиплоидию, гаметный отбор, культуру *in vitro* (эмбриокультура, микроразмножение, мутагенез), отбор по биохимическим показателям на качество плодов. Для ускоренного анализа данных создана электронная база химических показателей плодов вишни.

Ключевые слова: генофонд, вишня степная, биоразнообразие, селекция, отдаленная гибридизация, полиплоидия, гаметный отбор, культура *in vitro*, биохимический отбор.

Summary. At present, on the background of deterioration of the ecological situation, an increase in the frequency of dangerous mushroom epiphytoty and climate change, the Russian cherry gene pool does not meet contemporary production requirements. The accumulated and preserved Altai gene pool of the steppe cherry can be considered one of the most significant in the Russian Federation. It has a long history of creation and currently involves 6 wild-growing species, over 100 accessions

and 4,070 hybrids from 255 families. Genetic sources of valuable breeding features were revealed, including 18 that act as the genetic producers of unreduced gametes. The collections involving 63 natural and 350 amitotic polyploids, created through *in vitro* culture, are constantly replenished and maintained. In the long term, the steppe cherry culture is expected to move on a new hexaploid level ($2n = 48$). To maintain and expand the existing original gene pool and for its successful use in breeding, a complex methodical approach is needed. The authors of the article proposed an improved scheme of the breeding process, including: the attraction of new wild-growing East Asian genetic sources (*P. incisa* Thunb., *P. canescens* Bois., *P. serrulata* Lindl.), remote hybridization, polyploidy, gamete selection, *in vitro* culture (embryoculture, micropropagation, mutagenesis), selection according to biochemical parameters for fruit quality. For the accelerated analysis of the data, an electronic database of chemical parameters of cherry fruit was created.

Keywords: genofund, steppe cherry, biodiversity, breeding, remote hybridization, polyploidy, gamete selection, *in vitro* culture, biochemical selection.

Введение

Вишня степная (*Prunus fruticosa* Pall.) признана самым зимостойким видом. Имея сложное аллополиплоидное происхождение, она послужила генетической основой для возникновения аллополиплоидного европейского вида – *P. cerasus* L. В настоящее время из-за отсутствия иммунитета к опасным заболеваниям оба эти вида находятся в состоянии генетической и экономической депрессии. Фактически утрачены созданные в XX веке неиммунные сорта. Новый ассортимент вишни не в должной степени отвечает запросам современного производства плодов в промышленном масштабе [1-4]. Несмотря на указанные проблемы, генетический потенциал морозостойкой вишни степной нельзя считать полностью исчерпанным для использования в дальнейшей селекции.

Вишня на Алтае известна более 200 лет. Накопленный и сохраненный к настоящему времени алтайский генофонд (ФГБНУ ФАНЦА, Отдел НИИ садоводства Сибири имени М. А. Лисавенко, далее НИИСС) вишни степной один из самых значительных в РФ. Он имеет давнюю историю создания и насчитывает более 100 сортообразцов и 4070 гибридов из 255 семей. Ботаническое разнообразие коллекции представлено шестью видами рода *Prunus* L.: *P. fruticosa* Pall., *P. cerasus* L., *P. avium* L., *P. maackii* Rupr., *P. maximowiczii* Rupr., *P. pensylvanica* L. Путем аналитической и синтетической селекции выведено 17 сортов вишни [5]. В коллекции находятся более 40 полиплоидов, в том числе 17 гибридных гексаплоидов вишни степной.

На ближайшее время одно из приоритетных положений в методах селекции заняла отдаленная гибридизация. Возникла потребность радикальной реконструкции генома вишни за счёт интрогрессии в него генов иммунитета и высокой адаптивности к внешним условиям среды. Необходима разработка современной технологии создания адаптивных сортов вишни с

использованием усовершенствованных методических подходов. Она планируется на основе привлечения новых генетических источников, применения селекционного, биохимического и гаметного отборов, оптимизации биотехнологических приёмов *in vitro* для формирования полигеномного тетраплоидного и гексаплоидного сибирского генофонда. Целью скрещиваний является получение тетраплоидных и гексаплоидных полигеномных отдаленных гибридов со сложным генетическим базисом и с комплексом ценных хозяйственных признаков, включая богатый биохимический состав плодов [4, 6].

Методика

Традиционная селекция вишни в лесостепной зоне Алтайского края проводится по общепринятым методикам [7, 8]. Новый комплексный подход к изучению и использованию генофонда вишни степной закреплен в Программе селекцентра НИИСС до 2030 г. [3].

Усовершенствованная учеными НИИСС технология создания нового сорта на основе генома вишни степной отличается от европейских аналогов прежде всего своей комплексностью и включением дополнительных методических приёмов к основной базовой технологии.

Она включает в себя следующие этапы:

I. Создание и селекционная оценка исходного генофонда вишни путем расширения генетического разнообразия с привлечением дикорастущих видов, сложных полигеномных гибридов, спонтанных и искусственно созданных полиплоидов (индукция в культуре *in vitro*).

II. Подбор родительских пар и проведение скрещиваний генотипов с лучшими показателями репродуктивных и адаптивных признаков, проведение гетероплоидных скрещиваний родителей с разным числом хромосом и генетических источников нередуцированных гамет.

III. Выращивание и селекционная оценка семенного потомства с использованием эмбриокультуры *in vitro* для спасения и клонирования редких ценных полигеномных генотипов вишни.

IV. Отбор элитных форм с комплексом признаков адаптивности, урожайности и улучшенного биохимического состава плодов с применением биохимического и репродуктивного отбора.

V. Размножение и передача новых сортов на ГСИ с использованием оригинальных протоколов микроразмножения *in vitro* и усовершенствованных приёмов зеленого черенкования.

Коллекционный и гибридный фонды. В настоящее время в НИИСС на сортоизучении находятся представители 10-ти природных популяций, 41 сорт, 14 отборных и 3 элитные формы, 49 внутривидовых и межвидовых гибридов (табл.).

Таблица.

Алтайский генофонд вишни на 01.01.2018 г.

Генетическая группа	Коллекционный фонд, шт.	Гибридный фонд, шт.
Виды вишни и природные популяции	10	-
Сорта <i>P. fruticosa</i> , <i>P. cerasus</i> и <i>P. avium</i>	41	-
Гибриды от свободного опыления и межсортовые <i>P. fruticosa</i>	8	3040
Гибриды от свободного опыления <i>P. maackii</i> , <i>P. maximoviczii</i> , <i>P. pensylvanica</i> , <i>P. cerasus</i> , <i>P. avium</i>	-	422
Гибриды (<i>P. fruticosax</i> x <i>P. cerasus</i>), F ₁ - F ₃	8	330
Гибриды <i>P. fruticosa</i> , <i>P. cerasus</i> и <i>P. maackii</i> , F ₁ - F ₄	16	247
Гибриды с восточно-азиатскими видами и трёхвидовые	17	31

Отдаленная гибридизация является основным методом изменения геномов косточковых растений, интрогрессии генов и объединения полезных признаков от географически отдаленных видов. Инновационность нового этапа селекции заключается в использовании оригинального, богатого биологически активными соединениями, зимостойкого и устойчивого к коккомикозу сибирского гибридного генофонда, созданного с привлечением дикорастущих дальневосточных, восточноазиатских и американских сородичей вишни степной. В настоящее время гибридный фонд включает 4070 гибридов из 255 семей (табл.). Особую ценность для дальнейшей гибридизации имеют трехвидовые гибриды с восточноазиатскими вишнями: *P. maackii*, *P. maximoviczii*, *P. pensylvanica*, *P. incisa*, *P. serrulata*, *P. canescens* [3, 4, 6]. К сожалению, гибриды диплоидных и тетраплоидных видов обычно являются стерильными триплоидами. Для восстановления фертильности репродуктивной сферы они требуют удвоения числа хромосом в геноме.

Полиплоидия. В первой половине XXI столетия планируется перевод культуры вишни степной на генетически более сложный тетраплоидный и гексаплоидный уровни [3, 4, 6]. Для восстановления фертильности половой сферы у отдаленных межвидовых диплоидных и триплоидных гибридов вишни перспективно использовать индукцию удвоения числа хромосом амитотическими агентами в культуре *in vitro* [9]. В настоящее время в НИИСС поддерживается коллекция из 40 спонтанных и искусственно созданных в культуре *in vitro* полиплоидов. Среди них 17 гексаплоидов (6 отборных и 1 элитная формы). Создана коллекция из 18-ти генетических источников нередуцированных гамет с комплексом ценных признаков, формирующих после завершения мейоза от 3,3 до 36,8% диад и триад микроспор [10].

Культура *in vitro*. Результативность отдалённых скрещиваний низка. За 7 лет (2011-2017 гг.) средний процент завязи от числа цветков был 6,8%. Для повышения эффективности отдалённой гибридизации целесообразно использовать метод эмбриокультуры *in vitro* [3, 11].

В НИИСС предложен усовершенствованный метод по эмбриокультуре *in vitro* полигеномных зародышей вишни. В разных генетических группах получено от 29,5 до 86,7% клоновых линий (от числа введенных зародышей). Для церападусов (группа 4) выход их составил 29,5%, но при дальнейшем микроклонировании эти гибриды обладали самыми высокими способностями к размножению (рис. 1).

Рис. 1. Результативность эмбриокультуры *in vitro* для разных генетических групп вишни степной: 1 – гибриды вишни степной (ВС) и вишни обыкновенной (ВО); 2 – гибриды ВС, ВО и черешни; 3 – гибриды ВС, ВО, вишни остролистной или вишни надрезанной; 4 – гибриды ВС, ВО и вишни Маака; 5 – гибриды ВС, ВО и вишни курильской или вишни сахалинской.

С 2013 по 2017 гг. выращены полигеномные зародыши от 92 комбинаций скрещивания. Получено 233 клоновых линии, 2849 растений.

Разработана технология клонального микроразмножения алтайских генотипов вишни и микровишни [12]. Усовершенствованы элементы технологии размножения сортов и гибридов вишни степной способом зеленого черенкования [13].

Отбор по биохимическим показателям. В НИИСС по многолетним данным проанализирован биохимический состав плодов сортов и гибридов вишни. Дана оценка параметров пластичности и стабильности сортов,

отобраны перспективные формы с высоким содержанием биологически активных соединений, из которых особенно важны биоантиоксиданты – фенольные соединения, биофлавоноиды [3, 7, 14]. Лидерами в этом отношении являются гибриды F_3 , полученные с участием вишни степной и вишни Маака – 2000 мг/100 г биофлавоноидов в плодах и выше (рис. 2).

Рис. 2. Содержание (в среднем) биофлавоноидов в плодах вишни, 2013-2017 гг.

Наиболее перспективны из них: ВЧ 89-95-51, ВЧ 89-95-48, сорт Памяти Левандовского, ВЧ 11-85-39, ВЧ 89-95-50. Селекционное значение имеют также гибриды 5-98-277, 1-05-932, сорта Метелица, Алтайская ласточка и ряд других. Выявлена изменчивость содержания биологически активных соединений в плодах под влиянием метеоусловий вегетационного периода и соответствующие корреляционные связи.

Выводы

Преимущества предложенной НИИСС технологии селекции вишни степной заключаются: в комплексности, оригинальном в мировом масштабе по геномному и биохимическому составу зимостойком генофонде, включающем гетероплоидные генетические источники нередуцированных гамет с комплексом хозяйственно-ценных признаков. Имеются ноу-хау на

усовершенствованные методы биотехнологии (индукции полиплоидии *in vitro*, эмбриоспасения *in vitro*, клонального микроразмножения, гаметного и биохимического отборов) и на технологию размножения вишни зелеными черенками. В перспективе планируется создание сортов принципиально нового поколения и их коммерциализация на всей территории РФ.

Список использованной литературы

1. Куликов И. М. Основные направления реализации программы «Развитие садоводства и питомниководства в Российской Федерации на 2012-2014 гг. с продолжением мероприятий до 2020 г.» и ее научное обеспечение // Садоводство и виноградарство, 2011. – № 5. – С. 6-13.
2. Субботин Г. И. Вишня в южной Сибири. – Барнаул: АГАУ, 2002. – 149 с.
3. Программа работ селекцентра Научно-исследовательского института садоводства Сибири имени М. А. Лисавенко до 2030 года. – Новосибирск, 2011. – Вып. 3. – С. 46-51, 51-57, 58-65, 113-131.
4. Мочалова О. В., Плаксина Т. В., Гусев Д. А., Бояндина Т. Е. Гексаплоидная вишня на Алтае: перспективы и научные достижения // Вестник Алтайской науки, 2015. – №1. – С. 222-230.
5. Помология. Сибирские сорта плодовых и ягодных культур XX столетия / РАСХН. Сиб. отд-ние. – Новосибирск: ООО «Юпитер», 2005. – 508 с.
6. Мочалова О. В., Плаксина Т. В., Гусев Д. А., Бояндина Т. Е. Методические подходы к реконструкции генома вишни степной на гексаплоидном уровне // Вестник Алтайской науки, 2014. – № 1. – С. 192-197.
7. Программа и методика селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур. – Орел: ВНИИСПК, 1995. – С. 17-26, 75-89, 272-281.
8. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур. – Орел: ВНИИСПК, 1999. – 608 с.
9. Мочалова О. В., Гусев Д. А. Индукция полиплоидии у вишни степной и микровишни песчаной через культуру *in vitro* // Достижения науки и техники АПК, 2016. – Т. 30. – № 9. – С. 36-39.
10. Мочалова О. В. Генетические источники нередуцированных гамет в генофонде отдаленных гибридов вишни // Достижения науки и техники АПК, 2013. – № 7. – С. 14-16.
11. Плаксина Т. В., Кульханова Д. С., Матькова Е. Ю. Культура изолированных зародышей *in vitro* в практической селекции вишни // Достижение науки и техники АПК, 2013. – № 7. – С. 17-19.
12. Плаксина Т. В. Особенности размножения алтайских генотипов вишни и микровишни с использованием методов биотехнологии: Автореф. дисс. ... к. с.-х. наук. – Барнаул, 2008. – 18 с.
13. Усенко В. И., Бояндина Т. Е. Факторы увеличения выхода и повышения качества однолетних саженцев вишни степной // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки, 2014. – № 5. – С. 62-68.

14. Ершова И. В. Содержание биологически активных фенольных соединений в сибирских плодах и ягодах // Достижения науки и техники АПК, 2016. – Т. 30. – № 9. – С. 44-47.

**O. V. Mochalova, I. V. Ershova, T. V. Plaksina,
T. E. Boyandina, D. A. Gusev**

Federal Altai Scientific Centre of Agro-BioTechnologies, Barnaul, Russia

**GENETIC-BREEDING WAYS OF CONSERVATION AND EXPLANATION
OF STEPPE CHERRY (*PRUNUS FRUTICOSA* PALL.) GENOFUND:
COMPREHENSIVE APPROACH**