

УДК 634.1:631.52

УСКОРЕННОЕ СОЗДАНИЕ ГЕНОТИПОВ ЯБЛОНИ С ПОВЫШЕННЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ АДАПТИВНОСТИ И КАЧЕСТВА НА ОСНОВЕ ВЫЯВЛЕННЫХ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ НАСЛЕДОВАНИЯ ЗНАЧИМЫХ ПРИЗНАКОВ*

Ульяновская Е.В., д-р с.-х. наук, Супрун И.И., канд. биол. наук
Государственное научное учреждение Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства Россельхозакадемии
(Краснодар)

Реферат. Выделены новые доноры ценных селекционных признаков яблони на основе полученных новых знаний по формированию и проявлению значимых признаков.

Ключевые слова: яблоня, сорт, иммунитет, парша, качество плодов

Summary. The new donors of valuable selective traits of apple-tree on the basis of new knowledge about formation and manifestation of importance traits are allocated.

Key words: apple-tree, variety, immunity, scab, fruit quality

В настоящее время, несмотря на длительную, многоэтапную, планомерную работу по совершенствованию сортов плодовых культур, селекционеры еще очень далеки от биологических пределов в работе по улучшению качества плодов и по воплощению в сорте всех уже выявленных показателей адаптивности и устойчивости к стрессовым факторам среды, проявляющимся в последнее время все с большей частотой и силой [1, 2].

Селекция плодовых культур – сложный процесс, достаточно длительный и энергозатратный, обусловленный продолжительным ювенильным периодом, высокой степенью гетерозиготности и полиплоидной природой большинства садовых многолетних растений.

Основные задачи на этапе построения селекционной программы – обоснованный подбор исходного материала плодовых растений с учетом современных достижений генетики и селекции.

Цель исследований – создание новых доноров значимых признаков яблони на основе отбора по фенотипу в сочетании с идентификацией целевых признаков методом молекулярного ДНК-маркирования.

Объекты и методы исследований. НИР проводили в Северо-Кавказском зональном НИИ садоводства и виноградарства согласно «Программе и методике селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур» (1995); «Программе и методике сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур» (1999); «Комплексной программе по селекции семечковых культур в России на 2001-2020 гг.», «Современным методологическим аспектам организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве» (2012) и др.[1-5].

Молекулярную идентификацию гена Vf осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим электрофоретическим разделением продуктов ПЦР в 2% агарозном геле. В работе использовали внутригенный ДНК-маркер гена Vf, созданный на основе полиморфизма его нуклеотидной последовательности [6]. ПЦР проводили по стандартным методикам [7].

* Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и региональных инвесторов (проект №№ 11-04-96537 п_юг_ц; 13-04-96-552- п_юг_a)

Объекты исследования – новые сорта и элитные формы яблони селекции СКЗНИИСиВ и селекции СКЗНИИСиВ совместно с ВНИИСПК.

Обсуждение результатов. Известно, что первый принцип при подборе исходного материала – конструирование нового сорта – селекционер ведет на основе фактических данных генетики плодовой культуры, просчитывая заранее, как именно действовать с имеющимися генетическими донорами, какие гены возможно ввести в дополнение к прежним [1-3, 8]. Используя данный принцип в селекционной работе, всегда есть уверенность, что при качественных расщеплениях (от олигогенов) селекционер определенно получит заданный процент нужных форм, чем обусловлен значительный выигрыш во времени в работе с олигогенами, ведущий к ускорению селекционного процесса в целом.

В то же время необходимо отметить, что подбор родительских форм по фенотипу часто не дает желаемого результата, так как близкие по выраженности того или иного признака формы могут иметь различную генотипическую структуру этого признака и по-разному передавать этот признак потомству. Удвоение дозы олигогена в одном генотипе зачастую не приводит к фенотипическим различиям. Однако эффект гомозиготизации (например, по гену V_f иммунитета к парше у яблони) выражается в изменении численных расщеплений, увеличении выхода селекционно-ценных форм (в данном случае, иммунных сеянцев) [2, 5].

В ходе выполнения исследований комплексный отбор по фенотипу позволил выделить селекционно-ценные сорта и элитные формы яблони, сочетающие высокую устойчивость к абио- и биотическим стрессорам южного региона с комплексом значимых агробиологических признаков: скороплодность, регулярность плодоношения, высокая продуктивность, высокие показатели качества плодов, в том числе: хороший и отличный вкус, равномерная окраска, оригинальная, удлиненная форма, длительный период хранения и др. (табл.).

Среди выделенных по комплексу агробиологических признаков сортов и элитных форм яблони определены методом молекулярного ДНК-маркирования доноры иммунитета к парше. Это новые сорта яблони: Орфей, Марго, Талисман, Василиса, Юнона, Ноктюрн, Союз, Кармен, Фортуна, Рассвет, элитные формы 12/1-21-74, 12/2-21-33, 12/2-20-50 и др.

Для дальнейшей идентификации гена V_f иммунитета к парше, в том числе для выявления гомозиготности по гену V_f с учетом анализа генетического происхождения, выделен селекционно-ценный материал яблони (см. табл.).

С учетом генетического происхождения выделены иммунные к парше генотипы яблони с максимальным проявлением хозяйственно-ценных и адаптивно-значимых признаков для дальнейшей идентификации у перспективных форм генетической детерминанты целевых признаков (высокой лежкоспособности плодов – гены $Md-ACS1$ и $Md-ACO1$) методом молекулярного ДНК-маркирования (рис.).

Отобраны для ДНК-анализа новые сорта и формы яблони из гибридных семей: Голден Делишес тетраплоидный х 2034 (F_2 *M. floribunda* х Голден Делишес); Голден Делишес тетраплоидный х OR18T13 (Вольф Ривер х [Вольф Ривер х *M. atrosanguinea* 804/240-57]); Айдаред х Балсгард 0247E; Корей х Прима; Делишес х Балсгард 0247E; Прима х Алкмене; Прима х Уэлси тетраплоидный; Флорина х Любава и др.

В ходе исследований выделены доноры иммунитета к парше (*Venturia inaequalis*), совмещающие устойчивость к патогену на олиго- и полигенной основе, что ценно для создания генотипов с долговременной устойчивостью к парше: Орфей, Марго, 12/3-20-31, 12/1-21-60, 12/1-21-74, 12/1-21-77 и др.

Таблица 1 – Генотипы яблони, обладающие комплексом ценных агробиологических признаков (доноры иммунитета к парше и выделенные ценные формы для идентификации гена Vf, в том числе для выявления гомозиготности по искомому гену)

Сорта и элитные формы яблони	Идентификация гена Vf	Комплекс ценных агробиологических признаков
1	2	3
<i>Орфей</i>	*	Слаборослость, скороплодность, высокие темпы нарастания продуктивности, устойчивость к мучнистой росе, морозоустойчивость, засухоустойчивость, эффектные крупные плоды удлиненной формы с ярко-розовым румянцем (при созревании по большей части плода), высокие вкусовые качества плодов, длительный срок хранения
<i>12/3-21-18</i>	*	Слаборослость, скороплодность, высокие темпы нарастания продуктивности, морозоустойчивость, засухоустойчивость, удлиненная форма плодов, высокие вкусовые качества плодов
<i>12/3-21-20</i>	*	
<i>12/3-21-25</i>	**	
<i>12/1-21-61</i>	**	Слаборослость, скороплодность, высокие темпы нарастания продуктивности, устойчивость к мучнистой росе, морозоустойчивость, засухоустойчивость, крупноплодность, высокие вкусовые качества плодов
<i>12/1-21-74</i>	*	
<i>12/1-21-76</i>	**	
<i>28-42-32</i>	**	
<i>12/1-20-39</i>	**	
<i>12/1-20-59</i>	**	
<i>Марго</i>	*	
<i>12/1-21-68</i>	**	
<i>Ника</i>	**	Скороплодность, высокие темпы нарастания продуктивности, морозоустойчивость, засухоустойчивость, плоды равномерной желтой окраски высоких вкусовых достоинств (плоды по вкусу, окраске и форме, как у сорта <i>Голден Делишес</i>), длительный срок хранения
<i>Амулет</i>	**	Слаборослость, скороплодность, высокие темпы нарастания продуктивности, яркая окраска и высокие вкусовые качества плодов
<i>12/2-21-4</i>	**	
<i>44-30-48-з</i>	**	
<i>6-6-15</i>	***	
<i>Талисман</i>	*	Слаборослость, скороплодность, высокие темпы нарастания продуктивности, устойчивость к мучнистой росе, крупноплодность, высокие вкусовые качества плодов
<i>44-24-41-ю</i>	**	
<i>12/1-21-33</i>	**	
<i>6-2-24</i>	***	
<i>Купава</i>	**	Слаборослость, скороплодность, высокие темпы нарастания продуктивности, устойчивость к мучнистой росе, морозоустойчивость, засухоустойчивость, высокие вкусовые качества плодов
<i>12/2-21-59</i>	**	
<i>Василиса</i>	*	Слаборослость, скороплодность, высокие темпы нарастания продуктивности, морозоустойчивость, засухоустойчивость, крупноплодность, высокие вкусовые качества плодов, ценный биохимический состав

Продолжение табл. 1

1	2	3
<i>Юнона</i>	*	Скороплодность, высокие темпы нарастания продуктивности, устойчивость к мучнистой росе, морозоустойчивость, засухоустойчивость, крупноплодность, высокие вкусовые качества плодов
<i>Ноктюрн</i>	*	
<i>Союз</i>	*	
<i>12/2-21-33</i>	*	
<i>12/2-21-34</i>	**	
<i>12/3-21-6</i>	*	
<i>12/3-21-9</i>	*	
<i>12/3-20-16</i>	*	
<i>12/3-20-17</i>	*	Скороплодность, высокие темпы нарастания продуктивности, устойчивость к мучнистой росе, засухоустойчивость, высокие вкусовые качества плодов
<i>Памяти Евдокимова</i>	**	
<i>12/1-21-19</i>	*	
<i>12/2-20-38</i>	*	
<i>12/3-21-28</i>	*	
<i>12/3-21-31</i>	**	
<i>6-1-2</i>	***	
<i>6-1-5</i>	***	
<i>6-1-9</i>	***	Скороплодность, высокие темпы нарастания продуктивности, устойчивость к мучнистой росе, засухоустойчивость, яркая окраска, высокие вкусовые качества и ценный биохимический состав плодов
<i>6-2-38</i>	***	
<i>Кармен</i>	*	
<i>Фортуна</i>	*	
<i>Дуэт</i>	**	
<i>12/3-21-32</i>	*	
<i>44-24-25-в</i>	**	Скороплодность, высокая продуктивность, засухоустойчивость, крупные плоды зимнего срока созревания, высоких вкусовых достоинств
<i>12/2-20-20</i>	**	
<i>12/2-20-50</i>	*	
<i>12/2-20-53</i>	**	
<i>12/1-21-60</i>	*	
<i>12/1-21-43</i>	*	Раннелетний срок созревания, скороплодность, устойчивость к мучнистой росе, морозоустойчивость, засухоустойчивость, яркая окраска и высокие вкусовые качества плодов
<i>Рассвет</i>	*	

Примечание: * – донор иммунитета к парше (определен методом молекулярного ДНК-маркерирования);

** – выделенные ценные генотипы для идентификации гена Vf;

*** – выделенные элитные формы для выявления гомозиготности по гену Vf.

Планируется выявить гетеро- и, особенно, гомозиготные формы по аллелю 2 гена АСС-синтазы Md-ACS1-2, обуславливающие высокую лежкоспособность плодов, а также гомозиготные по аллелю 1 гена АСС-оксидазы (Md-ACO1-1) с использованием технологии ДНК-маркерирования у селекционного материала яблони, полученного на основе иммунных к парше родительских форм.

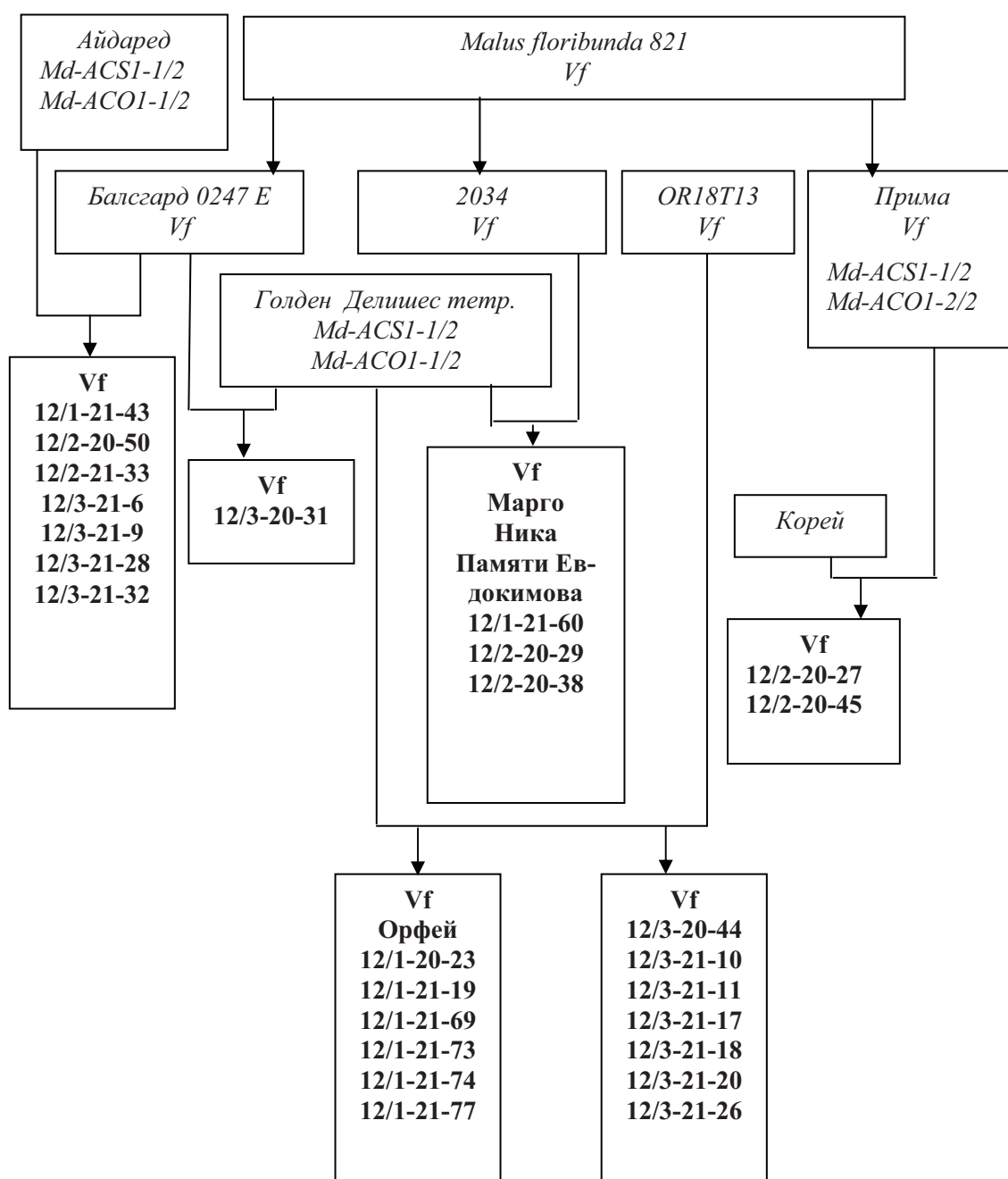


Рис. Иммунные к парше сорта и элитные формы яблони, выделенные по комплексу значимых признаков и генетическому происхождению для молекулярно-генетической идентификации генов Md-ACS1 и Md-ACO1

Примечание: Vf – наличие гена известно по литературным данным;

Vf – у генотипа яблони идентифицирован ген иммунитета к парше;

Редфри – исходная форма;

Рассвет – сорт (или элитная форма) селекции СКЗНИИСиб совместно с ВНИИСПК

Выделение новых доноров, обладающих комплексом ценных агробиологических признаков, представляет исключительную ценность для использования в различных селекционных программах по созданию принципиально новых генотипов с повышенными показателями адаптивности и качества. У всех представленных на рисунке генотипов яб-

лони идентифицирован методом молекулярного ДНК-анализа ген иммунитета к парше *Vf*, за исключением сортов Памяти Евдокимова, Ника и элитной формы 12/2-21-33 (у данных генотипов планируется идентифицировать наличие искомого гена).

Аллельные различия гена *Md-ACS1* обусловлены inserцией фрагмента ретротранспозона длиной 166 пар оснований в промоторной области гена, приводящей к снижению уровня экспрессии гена (Sunako et al., 1999). Для гена *Md-ACO1* аллельные различия обусловлены наличием *InDel* (Insertion/Deletion сайта) в третьем интроне, с размером inserции в 62 пары оснований, вероятно приводящей к низкому уровню транскрипции данного гена (Costa et al., 2005).

На основании указанного структурного полиморфизма для генов *Md-ACS1* и *Md-ACO1* созданы эффективные ДНК-маркеры, позволяющие идентифицировать их аллельные варианты.

Их наличие дает возможность выполнять ДНК-маркерный скрининг генофонда для выявления генотипов, несущих наиболее ценные сочетания аллелей, а также проводить их идентификацию в селекционном материале для создания сортов, обладающих повышенной лежкоспособностью плодов.

В ходе исследований планируется выделить новые высококачественные генотипы яблони, несущие аллели генов *Md-ACS1* и *Md-ACO1*, обеспечивающие пониженный синтез этилена в плодах, который обеспечивает длительное хранение и высокую транспортабельность плодов. Выявленные генотипы в дальнейшем будут активно использоваться в селекционных программах для создания новых конкурентоспособных сортов. Знание генетической основы данного признака в создаваемом селекционном материале позволит получить сорта с высоким качеством плодовой продукции, в том числе с высокой лежкоспособностью и транспортабельностью плодов.

Выводы. Таким образом, в дальнейшем в ходе исследований будут выявлены закономерности наследования значимых признаков яблони, которые определяют поиск новых доноров ценных признаков, в том числе комплексных доноров; правильный и обоснованный подбор родительских пар повышает эффективность селекционного процесса, выход сортов с заданными признаками и свойствами. Использование для идентификации генетической детерминанты значимых признаков методов молекулярного ДНК-маркирования позволит более эффективно вести поиск и выделение комплексных доноров ценных признаков.

Литература

1. Егоров, Е.А. Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве // Е.А. Егоров, Г.В. Еремин, Е.В. Ульяновская, А.П. Луговской [и др.]. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2012. – 569 с.
2. Программа и методика селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур. – Орел. – 1995. – 503 с.
3. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур. – Орел, 1999. – 606 с.
4. Комплексная программа по селекции семечковых культур в России на 2001-2010гг. – Орел. – 2001. – 29 с.
5. Программа селекционных работ по плодовым, ягодным, цветочно-декоративным культурам и винограду Союза селекционеров Северного Кавказа на период до 2010 г. – Краснодар, 2005. – 343 с.
6. Afunian M. R. Linkage *Vfa4* in *Malus × domestica* and *Malus floribunda* with *Vf* resistance to the apple scab pathogen *Venturia inaequalis* / Afunian M. R., Goodwin P. H., Hunter D. M. // *Plant Pathology* 2004, 53: 461-467.
7. Murray M.G. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA / M.G. Murray and W.F. Thompson // *Nucleic Acids Research*. - 1980.- V.10.- P. 4321-4325.
8. Ульяновская, Е.В. Ускоренное создание иммунных к парше сортов яблони с использованием молекулярно-генетических методов исследования / Е.В. Ульяновская, И.И. Супрун, Е.Н. Седов, Г.А. Седышева, З.М. Серова. – Краснодар, 2011. – 55 с.