

гибридов сахарной свеклы отечественной селекции.

Таким образом, оценка современного состояния производства сахарной свеклы в Российской Федерации выявила тенденции вариабельного роста основных показателей свекловодства (площадь посевов, урожайность, сахаристость), что подтверждает важность и значимость исследования эффективности функционирования свекловодства страны. Важное место при этом занимают инновационные проекты развития свеклосахарного комплекса как основы снижения импортной зависимости и бесперебойного обеспечения страны сахаром.

**Литература**

1. Бодин, А. Б. Производство сахарной свеклы и сахара в 2018 году. Особенности нового производственного сезона

/ [Электронный ресурс]. – Режим доступа: URL: <https://www.nsss-russia.ru/wp-content/uploads/2018/02/Бодин-Андрей-Борисович.pdf> / Дата обращения 3.05.2018.

2. Краткие итоги производства свеклы, сахара и показатели работы сахарных заводов Республики Армения, Республики Беларусь, Республики Казахстан, Кыргызской Республики и Российской Федерации в 2018 году / Евразийская сахарная ассоциация. – М.: ООО «Сахар», 2019. – 72 с.

3. Официальный сайт Федеральной службы государственной статистики / [Электронный ресурс]. – Режим доступа: URL: <http://www.gks.ru/> Дата обращения 15.05.2019.

4. Дворянкин, Е. А. Обзор производственных показателей свеклосахарного комплекса в 2005–2015 гг. / Е. А. Дворянкин, И. В. Апасов // Сахарная свекла. – 2016. – № 8. – С. 8–12.

5. Постановление Правительства Российской Федерации от 21 декабря 2018 года №1615 / [Электронный ресурс]. – Режим доступа: URL: <http://static.government.ru/media/files/Aa4pyASB4dEANcOqFVxYAIBPPpqHwtZ3.pdf>. – Дата обращения 10.05.2019.

ДК 633.63:575:632.52.577.1

**Молекулярно-генетические подходы для ускоренного создания гибридов сахарной свеклы с заданными свойствами**

*Т. П. Федулова*

*Всероссийский НИИ сахарной свеклы и сахара им. А. Л. Мазлумова, Россия*

При создании гибридов сахарной свеклы с выраженным гетерозисным эффектом в схемах скрещиваний необходимо использовать генотипы с высокой комбинационной способностью, которая часто связана со степенью их генетической дивергенции. В настоящее время одним из приоритетных способов повышения эффективности современной селекции является разработка и использование системы вспомогательных молекулярных маркеров для выявления скрытой генетической изменчивости, что позволяет решать проблему недостатка морфологических маркеров. Оценка генетического разнообразия исходного селекционного материала с помощью молекулярно-генетических маркеров, полиморфизма различных участков ДНК расширяет возможности и значительно сокращает затраты времени при дифференцировании генотипов. Результаты таких исследований могут быть полезными при отборе пар скрещиваний в гетерозисной селекции, ускоряя ее [7]. Принцип маркерного подхода к селекции очень удобен при анализе больших объемов генетических ресурсов. Использование методов молекулярного анализа является экономически выгодным. В то же время другие исследователи не обнаружили высоких ассоциаций между величинами гетерозиса гибридов и значениями генетических дистанций, рассчитанными на основе молекулярного анализа [5, 9]. Одним из наиболее распространенных методов выявления генетического полиморфизма у растений является SSR-метод [1]. Он выявляет полиморфизм tandemно организованных повторов ДНК (сателлитов). Длина повторяющейся единицы микросателлитных ДНК менее 10 п. н. Длина повторов сателлитных ДНК не имеет каких-либо ограничений. Она варьирует от 2 п. н. до нескольких сотен [4]. Белорусскими исследователями с использованием 15 пар микросателлитных праймеров осуществлена идентификация линий и гибридов сахарной

свеклы, составлены формулы-стандарты [3]. Изучение эффективности и пригодности использования систем молекулярных маркеров при исследовании генетического разнообразия родительских форм сахарной свеклы, выявление критериев оценки их генетической изменчивости при разработке технологии создания гетерозисных гибридов сахарной свеклы на основе MAS-селекции является актуальным направлением исследований.

Цель исследований заключалась в выявлении научно обоснованных критериев оценки генетической изменчивости родительских форм свеклы по SSR-маркерам для создания высокопродуктивных гибридов.

В качестве материалов для исследований были использованы мужскостерильные линии сахарной свеклы (МС 1101, МС 1126), многосемянные опылители (ОП 1122, ОП 1207, ОП 1211, ОП1128, ОП 1239). Выделение геномной ДНК из растительной ткани осуществляли стандартным методом [6]. Качество выделенной ДНК определяли электрофорезом в 1,5%-ном агарозном геле в присутствии бромистого этидия. Полученную ДНК растворяли в 10 мМ трис-НСI-буфера (pH – 8,0), содержащем 0,1 мМ ЭДТА, и использовали для ПЦР-анализа. Полимерно-цепную реакцию проводили на амплификаторе «Genues» (Великобритания). В работе использованы следующие производные праймеры: Sb04, Sb06, Sb07, Sb09, Sb10 [8]. Нуклеотидные последовательности праймеров указаны в таблице 1. Величину истинного гетерозиса вычисляли по формуле:

$$G_{ист.} = (F_1 - P_л) / P_л \times 100 \%,$$

где  $G_{ист.}$  – истинный гетерозис (%);  $F_1$  – значение изучаемого признака у гибридов первого поколения;  $P_л$  – значение признака у растений лучшей родительской формы [2]. Математическую обработку результатов исследований осуществляли с использованием программы Past 2.17.

В процессе исследований нами осуществлена оценка SSR-праймеров (Sb04, Sb06, Sb07, Sb09, Sb10) для выявления генетического полиморфизма селекционных материалов, а также использования их для эффективного подбора родительских пар в гетерозисной селекции. Каждый из праймеров обеспечил стабильную амплификацию полиморфных фрагментов ДНК. У индивидуальных генотипов по результатам ПЦР с парами праймеров Sb10, Sb04, Sb06 получены воспроизводимые электрофоретические профили с количеством амплифи-

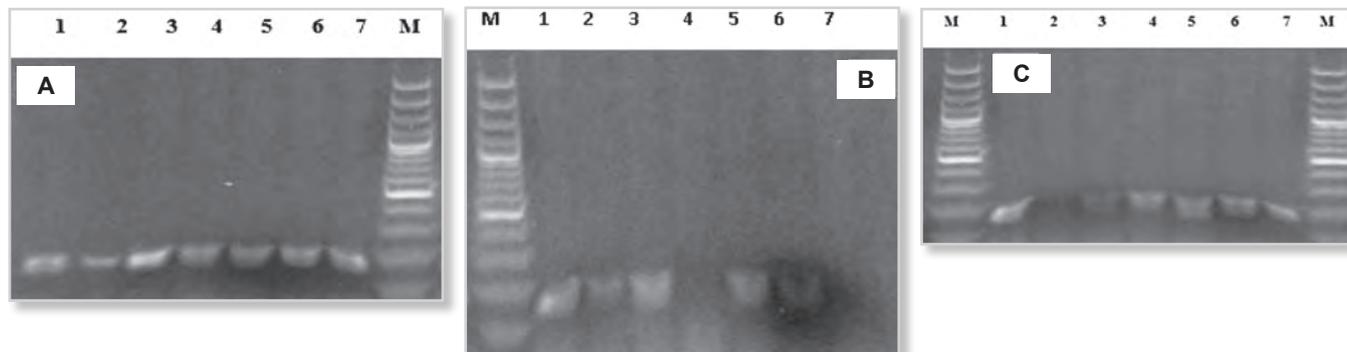
цированных фрагментов ДНК от 0 до 2. Детектированы ДНК-фрагменты длиной 150 п. н., 190 п. н., 200 п. н., 210 п. н. и 240 п. н. (рисунок 1). Уровень полиморфизма варьировал в пределах: от 33,3 % до 100 %. С парой праймеров Sb10 у всех изученных материалов выявлен ампликон длиной 200 п. н. Остальные полосы на электрофореграммах были полиморфными. Уровень несоответствия между изученными материалами варьировал от 50 % (для МС 1101 и ОП 1239) до 10 % (для МС 1126 и ОП 1128). Фрагмент ДНК длиной 190 п. н. выявлен только у селекционной линии МС 1101 из всех изученных, что может служить одним из тест-признаков при её генотипировании.

В результате ПЦР-анализа с парами праймеров Sb07 и Sb09 выявлены ампликоны длиной от 260 п. н. до 300 п. н. (рисунок 2). Электрофоретические профили для исследованных материалов характеризовались присутствием/отсутствием данных фрагментов ДНК. Уровень полиморфизма составил 100 %. У селекционных линий ОП 1122, ОП 1211 и ОП 1239 не было обнаружено продуктов ПЦР с данными праймерами. Уровень несоответствия между изученными материалами варьировал от 0 % (для ОП 1128 и МС 1126) до 100 % (для МС 1126 и ОП 1211).

По результатам ПЦР-анализа с 5-ю парами SSR-праймеров составлена матрица присутствия/отсутствия ампликонов (таблица 2).

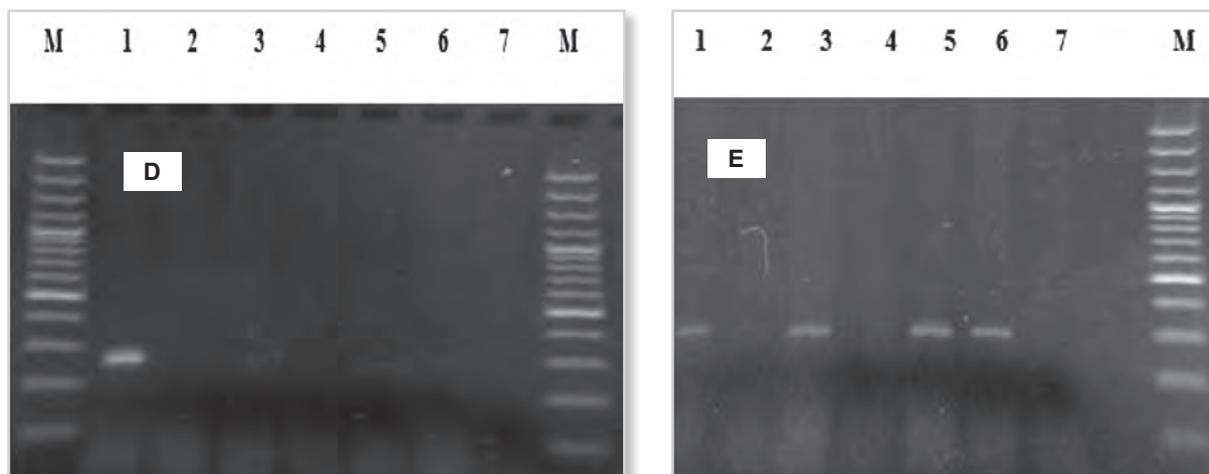
**Таблица 1 – Нуклеотидные последовательности SSR- праймеров**

Праймеры	Нуклеотидная последовательность
Sb04	Forward: 5'-ACC GAT CAC CAA TTC ACC AT -3' Reverse: 5'-GTT TTG TTT TGG GCG AAA TG -3'
Sb06	Forward: 5'-AAA TTT TCG CCA CCA CTG TC -3' Reverse: 5'-ACC AAA GAT CGA GCG AAG AA -3'
Sb07	Forward: 5'-TGT GGA TGC GCT TTC TTT TC -3' Reverse: 5'-ACT CCA CCC ATC CAC ATC AT -3'
Sb09	Forward: 5'-TGC ATA AAA CCC CCA ACA AT-3' Reverse: 5'-AGG GCA ACT TTG TTT TGT GG -3'
Sb10	Forward: 5'-TTC GTC CCT TGA TTG TGT CA -3' Reverse: 5'-GAG ATT GGG GAT CAC TCT GC -3'



Обозначения: 1 – МС 1101, 2 – ОП 1122, 3 – ОП 1207, 4 – ОП 1211, 5 – МС 1126, 6 – ОП 1128, 7 – ОП 1239, М – маркер молекулярных масс (Сибэнзим) 100–3000 п. н.

**Рисунок 1 – Электрофореграммы разделения ПЦР-продуктов, полученных с парами праймеров Sb10 (А), Sb06 (В), Sb04 (С)**



Обозначения: 1 – МС 1101, 2 – ОП 1122, 3 – ОП 1207, 4 – ОП 1211, 5 – МС 1126, 6 – ОП 1128, 7 – ОП 1239, М – маркер молекулярных масс (Сибэнзим) 100–3000 п. н.

**Рисунок 2 – Электрофореграммы разделения ПЦР-продуктов с парами праймеров Sb07 (D), Sb09 (E)**

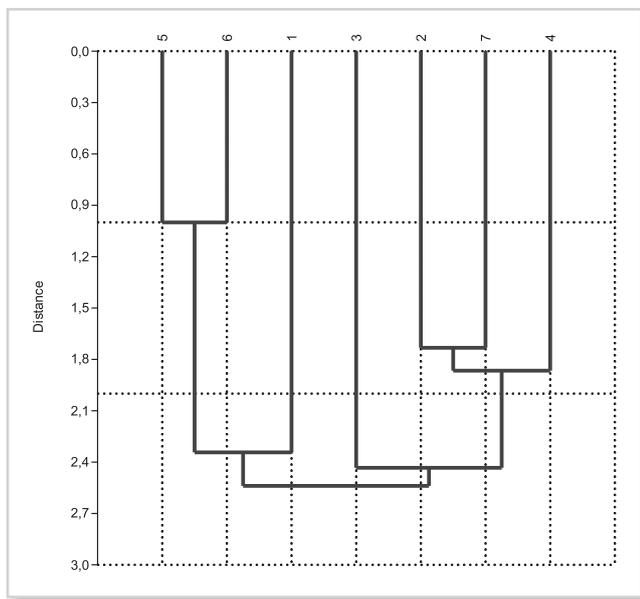
Результаты ПЦР-анализа с 5 парами SSR-праймеров позволили рассчитать генетические дистанции (евклидовы) и разделить экспериментальные образцы сахарной свеклы на 2 дивергентных класса в соответствии с алгоритмом UPGMA (рисунок 3).

Значения генетических дистанций между исследованными материалами в основном варьировали от 1,0 (для пары МС 1126 и ОП 1128) до 2,54 (для пары МС 1101 и ОП 1239 и др.). Максимальное евклидово расстояние ( $D = 3,16$ ) выявлено для пары скрещиваемых форм МС 1101 и ОП 1211. По максимальным генетическим дистанциям отобрано 5 из 5 (100 %) родительских пар, при гибридизации которых получены гетерозисные гибриды ( $G_{ист.} = 5,7-11,28$ ; урожайность корнеплодов – от 26,31 т/га до 30,47 т/га). В то же время 37,5 % отобранных по максимальным генетическим дистанциям между исходными формами гибридов имели отрицательные значения

гетерозиса от  $-5,02\%$  до  $-1,25\%$ . Для селекционных материалов МС 1126 и ОП 1128, при скрещивании которых получен низкоурожайный гибрид ( $G_{ист.} = -1,25\%$ ; урожайность корнеплодов – от 21,21 т/га), выявлено самое низкое для изученных материалов евклидово генетическое расстояние  $D = 1,0$ .

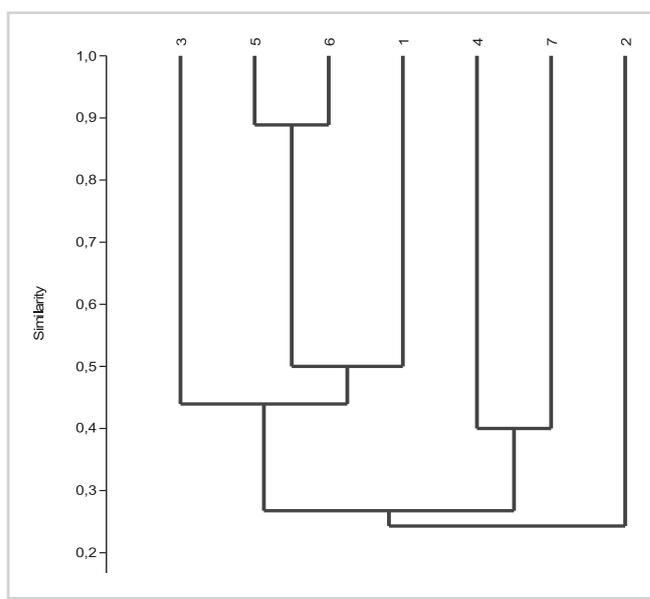
Также для выявления степени разнообразия исследуемых материалов (большей визуализации степени сходства и различия) был рассчитан коэффициент Жаккара (бинарная мера сходства). Для группы исследованных материалов его величина варьировала от 0,09 до 0,8 (таблица 3). Наибольший индекс сходства выявлен для МС 1126 и ОП 1128 ( $K_j = 0,88$ ). Наименьшее значение коэффициента Жаккара ( $K_j = 0,09$ ) установлено для пары родительских компонентов МС 1101 и ОП 1211.

На основе полученных данных была построена дендрограмма генетических взаимоотношений исходных



Обозначения: 1 – МС 1101, 2 – ОП 1122, 3 – ОП 1207, 4 – ОП 1211, 5 – МС 1126, 6 – ОП 1128, 7 – ОП 1239

**Рисунок 3 – Дендрограмма генетических расстояний между исходными линиями сахарной свеклы**



Обозначения: 1 – МС 1101, 2 – ОП 1122, 3 – ОП 1207, 4 – ОП 1211, 5 – МС 1126, 6 – ОП 1128, 7 – ОП 1239

**Рисунок 4 – Дендрограмма генетических дистанций между исходными линиями сахарной свеклы**

**Таблица 2 – Матрица присутствия/отсутствия ДНК-ампликонов на электрофореграммах разделения продуктов SSR-анализа селекционных линий**

№ п/п	1	2	3	4	5	6	7	Длина ДНК-фрагментов, п. н.	Наименование праймеров
Наименование селекционного материала	МС 1101	ОП 1122	ОП 1207	ОП 1211	МС 1126	ОП 1128	ОП 1239		
Присутствие / отсутствие ДНК-фрагментов на электрофореграммах	0	0	0	1	1	1	1	210	Sb10
	1	1	1	1	1	1	1	200	
	1	0	1	0	0	0	0	190	
	0	0	1	1	0	0	0	240	Sb04
	0	0	1	1	1	1	0	210	
	1	0	0	0	1	1	1	200	
	1	0	0	0	1	0	0	190	Sb06
	1	1	1	0	1	1	0	200	
	0	0	1	0	1	1	0	190	
	1	0	0	0	0	0	0	150	Sb07
	1	0	0	0	1	1	0	260	
	1	0	1	0	1	1	0	300	

родительских линий сахарной свеклы (рисунок 4). Результаты кластерного анализа демонстрируют условное родство между исследованными генотипами сахарной свеклы. Математический анализ позволил сгруппировать селекционные материалы в два основных кластера. В первый вошли мужскостерильные линии МС 1126 и МС 1101, а также многосемянные опылители ОП 1128, ОП 1207. Во второй кластер вошли многосемянные опылители ОП 1211 и ОП 1239. Селекционная линия ОП 1122 не вошла ни в одну из указанных групп сходства материалов.

Нами также была исследована взаимосвязь генетической отдаленности селекционных материалов и значений уровня истинного гетерозиса (таблица 4). Расчеты показали, что скрещивание линий с минимальным значением коэффициента Жаккара ( $K_J = 0,09-0,22$ ) позволило получить два гибрида (МС 1101 X ОП 1211 и МС 1101 x ОП 1239) с максимальными значениями истинного гетерозиса ( $\Gamma_{ист.} = 7,19-11,28$ ). Для пар линий с максимальными значениями индекса сходства ( $K_J = 0,45-0,88$ ) выявлены отрицательные значения истинного гетерозиса ( $\Gamma_{ист.} = -1,25$ ). При скрещивании материалов, у которых значения коэффициента Жаккара варьировали в пределах  $K_J = 0,3-0,4$ , получены гибриды как с положительными, так и отрицательными

значениями истинного гетерозиса. Процент успешного прогнозирования уровня СКС составил 66,6 % (при отборе материалов с  $K_J = 0,3-0,09$ ).

Таким образом, для эффективного отбора родительских пар с высокой СКС следует дополнить математический анализ результатами ПЦР с дополнительными маркерами, позволяющими точнее дифференцировать селекционные материалы, такими как SNP. Для более надёжного прогнозирования уровня СКС следует оценивать генетическую вариабельность селекционных материалов с использованием высокодифференцирующих молекулярных маркеров, позволяющих выявлять как высокую ( $D = 2,24-3,16$ ), так и низкую степень ( $D = 0-1,41$ ) генетического родства исходных родительских форм. Получаемый фингерпринт ДНК с такими маркерами должен быть высоко полиморфен и воспроизводим. Молекулярные маркеры, выявляющие генетические дистанции от  $D = 3,16$  и более, целесообразно использовать для предсказания уровня истинного гетерозиса. Определение генетических дистанций между исходными родительскими формами на ранних этапах селекционного процесса позволит выбраковывать неэффективные пары, ускоряя таким образом создание гибридов свеклы с заданными свойствами.

**Таблица 3 – Коэффициенты сходства Жаккара ( $K_J$ ), рассчитанные для исходных селекционных материалов сахарной свеклы**

Селекционные материалы	МС 1101	ОП 1122	ОП 1207	ОП 1211	МС 1126	ОП 1128	ОП 1239
МС 1101	1	0,25	0,36364	0,090909	0,54545	0,45455	0,22222
ОП 1122	0,25	1	0,28571	0,2	0,22222	0,25	0,25
ОП 1207	0,36364	0,28571	1	0,375	0,45455	0,5	0,11111
ОП 1211	0,090909	0,2	0,375	1	0,3	0,33333	0,4
МС 1126	0,54545	0,22222	0,45455	0,3	1	0,88889	0,33333
ОП 1128	0,45455	0,25	0,5	0,33333	0,88889	1	0,375
ОП 1239	0,22222	0,25	0,11111	0,4	0,33333	0,375	1

**Таблица 4 – Уровень проявления гетерозиса у пробных гибридов сахарной свеклы**

Селекционный материал	Коэффициент Жаккара, $K_J$	Урожайность, т/га корнеплодов	Истинный гетерозис, $\Gamma_{ист.}$ %
МС 1126	–	21,21	–
ОП 1128	–	21,48	–
ОП 1207	–	24,89	–
ОП 1211	–	25,59	–
ОП 1239	–	27,38	–
МС 1101	–	17,53	–
ОП 1122	–	20,30	–
МС 1126 × ОП 1128	0,88889	21,21	-1,25
МС 1126 × ОП 1207	0,45455	26,31	5,7
МС 1126 × ОП 1211	0,30000	27,43	7,19
МС 1126 × ОП 1239	0,33333	26,62	-2,77
МС 1126 × ОП 1122	0,22222	21,21	0
МС 1101 × ОП 1122	0,25000	19,28	-5,02
МС 1101 × ОП 1207	0,36364	26,31	5,7
МС 1101 × ОП 1211	0,090909	27,43	7,19
МС 1101 × ОП 1128	0,45455	21,21	-1,25
МС 1101 × ОП 1239	0,22222	30,47	11,28
НСР <sub>0,5</sub>		1,1	

**Литература**

1. Боронникова, С. В. Молекулярное маркирование и генетическая паспортизация ресурсных и редких видов растений с целью оптимизации сохранения их генофондов / С. В. Боронникова // *Аграрный вестник Урала*, 2009. – № (56). – С. 57–59.
2. Омаров, Д. С. К методике учета и оценки гетерозиса у растений / Д. С. Омаров // *Сельскохозяйственная биология*. – 1975. – Т. 10. – № 1. – С. 123–127.
3. Микросателлитный анализ линейного материала сахарной свеклы / А. М. Свищевская [и др.] // *Генетика и биотехнология XXI века. Фундаментальные и прикладные аспекты: материалы Международной научной конференции*. – Минск. – 2008. – С. 160–162.
4. Сателлитные ДНК / В. Хемлебен [и др.] // *Успехи биологической химии*. – 2003. – Т. 43. – С. 267–306.
5. Использование RAPD-маркеров для оптимизации отбора исходного материала перца сладкого (*Capsicum annuum* L.) в селекции на гетерозис / М. Н. Шаптуренко [и др.] // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. – 2013. – Т. 17. – № 1. – С. 63–71.
6. Efficient and nontoxic dna isolation method for pcr analysis / A. S. Hussein [et al.] // *Russian Agricultural Sciences*. – 2014, Т. 40. – № 3. – С. 177.
7. Relationship between phenotypic and genetic diversity of parental genotypes and the specific combining ability and heterosis effects in wheat (*Triticum aestivum* L.) / K. Krystkowiak [et al.] // *Euphytica*. – 2009. – Vol. 165. – P. 419–434.
8. Polymorphic microsatellite markers for inferring diversity in wild and domesticated sugar beet (*Beta vulgaris* L.) / C. M. Richards [et al.] // *Mol. Ecol. Notes*. – 2004. – № 4. – P. 243–245.
9. Comparison of genetic and morphological distance with heterosis between *Medicago sativa* and subsp. *Falcate* / H. Riday [et al.] // *Euphytica*. – 2003. – Vol. 131. – P. 37–45.

УДК 633.63:631.526.32(476)

**Сорт – основа урожая**

*В. А. Бейня, Н. Ф. Рубан*

*Государственная инспекция по испытанию и охране сортов растений, Беларусь*

Среди полевых культур, возделываемых в нашей стране, сахарная свекла является важнейшей технической культурой. Она дает сырье для получения ценнейшего продукта питания – сахара. Из общего производства сахара в мире на долю сахарной свеклы приходится около 40 %, а в странах с умеренно теплым и умеренным климатом она является единственным источником получения этого продукта. Поэтому и в мировых масштабах в целом, и в масштабах нашей страны свекловичный сахар остается значительной составляющей пищевого баланса. Высокая энергетическая емкость и лабильность как непосредственного питательного вещества (пищевого продукта), простота использования в сочетании с традиционно устойчивыми вкусовыми привычками человека к сладостям гарантируют сахару неопределенно длительную перспективу.

По энергетическому эквиваленту сахар в пищевом рационе европейца составляет 12 %, а сахарная свекла в мировом табели рангов пищевых ресурсов растениеводства занимает 14-е место. Исторически свекловодство всегда было связано с повышением уровня научно-технического прогресса в земледелии.

В обеспечении республики собственным сахаром одно из главных мест принадлежит сорту. Сорт – важнейшее средство производства, определяющее во многом эффективность земледелия. Рост продуктивности сельскохозяйственных растений без внедрения в производство новых сортов в полной мере невозможен.

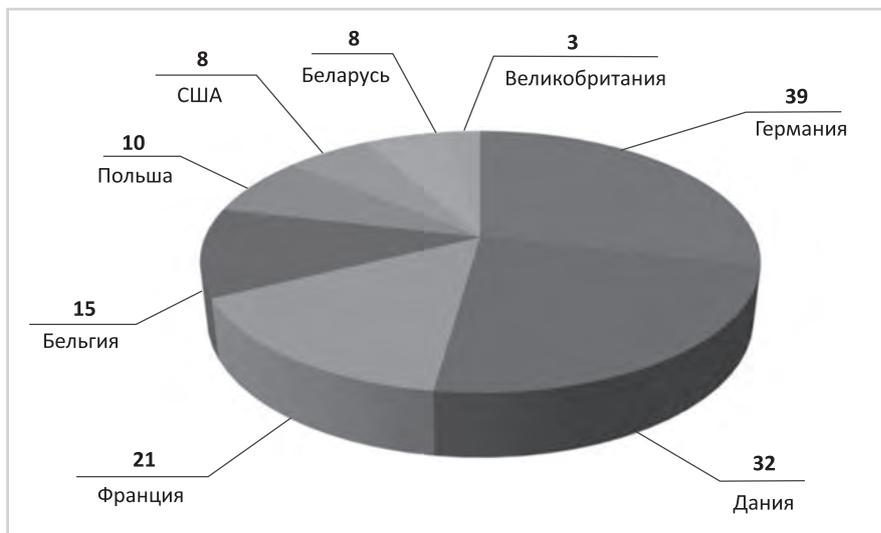
Основной целью государственного испытания гибридов сахарной свеклы является изучение и подбор лучших для возделывания в Республике Беларусь гибридов, обладающих высокой урожайностью, сахаристостью, пригодностью к промышленной пе-

реработке, а также устойчивостью к различным заболеваниям.

Испытание сахарной свеклы в Республике Беларусь проводится на 5 сортоиспытательных станциях и участках, в четырех сырьевых зонах сахарных заводов.

По состоянию на 1 января 2019 г. в Государственный реестр сортов включено 136 гибридов сахарной свеклы, предназначенных для возделывания в Брестской, Гомельской, Гродненской, Минской и Могилевской областях. Гибриды сахарной свеклы представлены такими странами, как Германия (39 гибридов), Дания (32), Франция (21), Бельгия (15), Польша (10), Беларусь (8 гибридов, из них совместной селекции с Сербией 2 гибрида и Германией – 1 гибрид), США (8), Великобритания (3 гибрида) (рисунок).

В последние годы в сортоиспытании сахарной свеклы отмечается высокая конкуренция среди испытываемых гибридов. В среднем за последние 5 лет,



**Количество гибридов сахарной свеклы, включенных в Государственный реестр сортов**