

### Библиографический список

1. Pant, M., Negi, A., Singh, A., Gautam, A., & Rawat, M. *Cattleya orchids: a mini review.* / J Crit Rev, -2020.- № 7., p. 4592-4598.
2. Rogerson, W. *Cattleya species and their culture.* / Orchids/,2016, - vol 85, - № 10., p. 26-37.
3. Samiei L, Davoudi Pahnehkolayi M, Tehranifar A, Karimian Z. Organic and inorganic elicitors enhance in vitro regeneration of *Rosa canina*. /J Genet Eng Biotechnol/, 2021, - vol 3, -№1., p. 60. doi: 10.1186/s43141-021-00166-7.
4. Mose, W., Indrianto, A., Purwantoro, A., & Semiarti, E. The influence of thidiazuron on direct somatic embryo formation from various types of explants in *Phalaenopsis amabilis* (L.) blume orchid. /Hayati journal of Biosciences/, 2017. vol 24, -№ 4., p. 201-205.
5. Samala, S., & Thipwong, J. Influences of Organic Additives on Asymbiotic Seed Germination of *Dendrobium cruentum* Rchb. f. for In Vitro Micropropagation. / Trends in Sciences/, 2023. vol 20, -№3., p. 4181-4181.

УДК 631.853.494

### МОЛЕКУЛЯРНЫЙ СКРИНИНГ КОЛЛЕКЦИИ ЯРОВОГО РАПСА НА УСТОЙЧИВОСТЬ К КИЛЕ КРЕСТОЦВЕТНЫХ

*Мурзина Эльвира Рафаэлевна, аспирант кафедры ботаники, селекции и семеноводства садовых растений, ФГБОУ ВО РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева. e-mail: e.murzina@rgau-msha.ru*

**Аннотация:** *Методом молекулярного скрининга была изучена коллекция селекционных образцов яровых рапсов, полученных отдаленной гибридизацией, на гены устойчивости к киле (*Plasmiodiophora brassicae* Wor.). Гены устойчивости были переданы из капустно-редечного гибрида *Brassicoraphanus*. По результатам скрининга были выявлены маркеры генов *Cra*, *Crb* и *CRA05*.*

**Ключевые слова:** *Молекулярные маркеры, гены устойчивости, кила крестоцветных, яровой рапс*

Яровой рапс – масличная культура, имеющая глобальное экономическое значение, с многофункциональным применением [7]. По данным Росстата на 2022 год посевные площади ярового рапса в России составляют 2 339,1 тыс. га, что на 38,9% (на 654,5 тыс. га) больше, чем в 2021 году [3]. Рапс возделывают в регионах, где развито производство и других капустных культур, что приводит к тому, что посевы сильно страдают от заболеваний и вредителей крестоцветных, в частности, и от килы (*Plasmiodiophora brassicae* Wor.). Заражение киллой, по данным исследований, приводит к значительному снижению урожайности, качества масла, а также возможна 100% гибель растений на поле. Для борьбы с этим заболеванием единственным

эффективным методом является выращивание устойчивых сортов и гибридов [6].

В качестве донора генов устойчивости к киле был использован отдаленный гибрид *Brassicoraphanus*, полученный в результате гибридизации капусты белокочанной F1 Килатон и линия дайкона Да-8 [1]. Беккроссное потомство [(Джаз х Маджонг) МС х (926ки1МС х (926ки1МС х BR))] были апробированы на искусственном инфекционном фоне в условиях стеллажной теплицы, а также проверены с помощью трех молекулярных маркеров: *Cra* (праймеры GC3060R, F [5]); *Crb* (праймеры B0902R, F [4]); *CRA05* (праймеры Тау\_cBrCR404 [2]).

Таблица 1.

**Оценка образцов рапса на устойчивость к киле по 4-х балльной шкале**

№	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Балл поражения	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
№	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	39	Rфакт	Sфакт
Балл поражения	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39	0

Примечание: 0 – отсутствуют следы заражения, 1 – галлы на боковых корешках, 2 – поражение боковых корней. 3 – поражение главного корня, 4 – растение погибло

ПЦР проводили с ДНК, выделенной СТАВ методом (Thompson and Murray, 1980). Концентрация ДНК измеряли NanoPhotometr p330 (IMPLEN, München, Германия) и доводили до рабочей концентрации 100-200 нг/мкл.

Реакционную смесь готовили по рекомендациям авторов статей: 1 × ThermoPol Reaction buffer (с содержанием Mg<sup>2+</sup>), 200 μM dNTPs, 0.2 μM прямого праймера, 0.2 μM обратного праймера, 0.5 U of Taq DNA полимеразы, 200 нг ДНК матрицы и доводили объём водой, свободной от нуклеаз, до 10 мкл.

Аmplификацию всех маркеров проводили по одной программе: денатурация 94 °C 4 минуты, далее 30 циклов 94 °C 30 сек, отжиг 60 °C 30 сек, и элонгация 72 °C 30 сек; финальную элонгацию проводили при 72 °C 5 мин. ПЦР продукты разделяли с помощью агарозного геля 1,5% в 0.5 x TBE буфере и визуализировали с помощью УФ света в ChemiDoc XRS+ (BioRad, USA), фотографировали с помощью программного обеспечения Image Lab Software (BioRad).

Для установления происхождения различных генов устойчивости в исследуемых генотипах был проведен молекулярно-генетический скрининг родительских компонентов: F1 гибридов Килатон и Джаз, линий рапс 926ки1МС, Маджонг 8, линии дайкона Да-8, отдаленный гибрид *Brassicoraphanus*.

В результате было установлено, что маркер гена *CRA05* [2] был обнаружен только у линии рапса 926ки1МС. У остальных образцов данный маркер отсутствует.

Аmplификация маркера B0902 [4] на ген *Crb* обнаружила ожидаемые фрагменты 160 п.н.(R) и 240 п.н. (S) у линии Да-8, *Brassicoraphanus*, 926ки1МС и Маджонг8. У двух образцов: F1 Килатон и Джаз амплифицировался неспецифичный фрагмент размером 200 п.н.

Амплификация маркера на ген *Cra* с праймерами GC3060 R, F [5] обнаружила ожидаемые фрагменты 300 п.н. (R) у линий Да-8 (гомозигота), 926ки1МС (гетерозигота) и Маджонг8МС (гетерозигота). Образцы Килатон, *Brassicoraphanus* и Джаз гомозиготные по восприимчивости. Следует отметить, что у *Brassicoraphanus* и Джаз был амплифицирован неспецифичный фрагмент размером 400 п.н.

Скрининг 39 образцов комбинации скрещивания [(Джаз х Маджонг) МС х (926ки1МС х (926ки1МС х BR))] проводили для дальнейшего отбора в качестве родительского компонента селекции рапса.

По результатам молекулярного скрининга маркера *Cra* с праймерами GC3060 R, F [5] только у 39 образца данный маркер отсутствует, все остальные генотипы гетерозиготы, что связано с тем, что два родительских компонента (926ки1МС и Маджонг8МС) скрещиваний гомозиготы по гену устойчивости.

У маркера B0902 [4] на ген *Crb* ожидаемый фрагмент у устойчивых генотипов (R) размером 160 п.н. и 241 п.н. у восприимчивых генотипов (S). По результатам скрининга у всех генотипов обнаружен неспецифичный фрагмент 200 п.н.

Также у 1-13, 16, 22, 24, 28-39 идет неспецифичная амплификация, фрагменты размером 300 п.н, что схоже с результатами, полученными у образца *Brassicoraphanus*. Также у указанных генотипов присутствует фрагменты ~240 п.н., что соответствует восприимчивому генотипу. Для подтверждения или опровержения необходимо провести фенотипическую оценку.

Маркер Tau\_cBrCR404 на ген *CRA05* [2] имеет ожидаемый фрагмент размером 400 п.н. (404 п.н.). Амплификация с праймерами Tau\_cBrCR429R, 026F обнаружила ожидаемые фрагменты у всего образцов генотипа [(Джаз х Маджонг) х (926ки1МС х (926ки1МС х BR))].

#### Заключение

1. В дальнейшем селекционном процессе необходимо продолжить контроль наследования генов устойчивости к киле посредством молекулярного генотипирования маркерами Tau\_cBrCR404, B0902 и GC3060

2. Полученные растения дают генетическое разнообразие в селекции рапса, а также являются перспективными источниками других генов и локусов устойчивости к биотическим и абиотическим стрессорам.

3. Необходимо продолжить поиск новых маркеров и генов устойчивости к киле и другим заболеваниям в изучаемой популяции рапса

#### Библиографический список.

1. Мурзина Э. Р., Монахос С. Г., Монахос Г. Ф. Создание исходного материала для селекции рапса с устойчивости к киле //Проблемы селекции-2022. – 2022. – С. 52-52.

2. Нгуен, М.Л., Монахос Г.Ф., Комахин Р.А., Монахос С.Г. Новый локус устойчивости к киле в хромосоме A05 капусты пекинской (*Brassica rapa* L.) // Генетика-2018. – Т. 54, № 3. – С. 306–315.

3. Рапсовое наступление. Экспертный анализ рынка рапса [сайт] URL: <https://www.agroinvestor.ru/opinion/> (дата обращения 20.05.2023)
4. Kato, T., Hatakeyama K., Fukino N. & Matsumoto S. Identificaiton of a clubroot resistance locus conferring resistance to a Plasmodiophora brassicae classified into pathotype group 3 in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.) // *Breed. Sci.* – 2012. – № 62. Pp. 282–287.
5. Ueno, H. et al. Molecular characterization of the Cra gene conferring clubroot resistance in *Brassica rapa* // *Plant molecular biology.* – 2012. – № 80. Pp. 621–629.
6. Strelkov, S. E. et al. Emergence of new virulence phenotypes of *Plasmodiophora brassicae* on canola (*Brassica napus*) in Alberta, Canada // *European Journal of Plant Pathology.* – 2016. – Т. 145. – С. 517-529.
7. Zheng, Q., Liu K. Worldwide rapeseed (*Brassica napus* L.) research: A bibliometric analysis during 2011–2021 // *Oil Crop Science.* – 2022. – Т. 7. – №. 4. – С. 157-165.

УДК: 635-152:635.15:633.853

## ПОЛУЧЕНИЕ ГИБРИДНЫХ РАСТЕНИЙ МЕЖДУ ВИДАМИ *RAPHANUS SATIVUS* L. И *BRASSICA NAPUS* L.

**Чернявская Ольга Андреевна**, магистрант 1 курса института СуЛИА ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева, e-mail: [a.zemskij@inbox.ru](mailto:a.zemskij@inbox.ru)

Научный руководитель – **Миронов Алексей Александрович**, к.с.-х.н., доцент кафедры ботаники, селекции и семеноводства садовых растений ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева, e-mail: [a.mironov@rgau-msha.ru](mailto:a.mironov@rgau-msha.ru)

**Аннотация.** В работе представлены результаты классической гибридизации и технологии спасения зародышей при получении межвидовых растений между видами *Raphanus sativus* L. и *Brassica napus* L.. В результате работы получены межвидовые растения, адаптированные к нестерильным условиям.

**Ключевые слова:** *Raphanus sativus* L., *Brassica napus* L., межвидовая гибридизация, технология спасения зародышей

Так как редис относится к раннеспелым культурам, свою популярность в данный момент он получил за счет доступности, скороспелости, удобстве при выращивании, а также огромной пользе для организма человека. Данная культура по-своему уникальна и представляет интерес потребителя благодаря целому ряду веществ, приносящих пользу. Культура довольно многофункциональна в использовании, так как в пищу употребляются все части растения (проростки, листья, корнеплод, молодые стручки).

Межвидовые скрещивания с *Raphanus sativus* L. дают возможность передать растениям уникальные признаки, которые ранее не были в нем обнаружены. К новым признакам можно отнести цитоплазматическую