

УДК 634.1:631.542

UDC 634.1:631.542

4.1.4. Плодоовощеводство и виноградарство
(сельскохозяйственные науки)

4.1.4 Pomyculture and Viticulture

НАСТОЯЩЕЕ И БУДУЩЕЕ СЕЛЕКЦИИ ЧЕРЕШНИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАРКЕРНЫХ МЕТОДОВ

PRESENT AND FUTURE OF MARKER- ASSISTED BREEDING IN SWEET AND SOUR CHERRY

Хилманд Мохаммад Касам
аспирант
qasamhelmand6@gmail.com

Helmand Mohammad Qasam
postgraduate student
qasamhelmand6@gmail.com

Чумаков Сергей Семенович
доктор сельскохозяйственных наук, доцент
chsergei499@gmail.com

Chumakov Sergey Semenovich
Doctor of Agricultural Sciences, Associate Professor
chsergei499@gmail.com

*Кубанский государственный аграрный университет
имени И.Т. Трубилина, г. Краснодар, Россия*

*Kuban State Agrarian University named after I.T.
Trubilin, Krasnodar, Russia*

В данной статье рассматриваются современные достижения в селекции черешни, включая методические подходы и результаты межвидовой гибридизации. Сложности селекции обусловлены длительным ювенильным периодом и низкой завязываемостью плодов у кислой черешни, а также ограниченной доступностью источников генетической устойчивости. Тем не менее, недавняя работа в области молекулярной селекции и генетической архитектуры позволяет выделять новые элитные сорта и улучшать агрономические характеристики, такие как устойчивость к болезням, время цветения и созревания, продуктивность, а также качество плодов. В ходе исследования были проанализированы четыре популяции черешни и кислой вишни, для каждой из которых провели оценку множества фенотипических признаков. Обнаруженные QTL (локусы количественных признаков) подтвердили сложную полигенную природу многих агрономически полезных характеристик, что открывает новые возможности для маркерно-ориентированной селекции (MAS). Основные результаты подчеркивают значимость генетического картирования для дальнейшего улучшения сортов черешни, а также необходимость применения более современных протоколов фенотипирования для выявления устойчивых и продуктивных генотипов

This article reviews current advances in sweet and sour cherry breeding, including methodological approaches and the results of interspecific hybridization. Breeding challenges stem from the long juvenile period and low fruit set of sour cherries, as well as the limited availability of sources of genetic resistance. However, recent work in molecular breeding and genetic architecture allows for the identification of new elite varieties and the improvement of agronomic traits such as disease resistance, flowering and ripening time, productivity, and fruit quality. The study analyzed four populations of sweet and sour cherries, assessing multiple phenotypic traits for each. The identified QTLs (quantitative trait loci) confirmed the complex polygenic nature of many agronomically beneficial traits, opening new opportunities for marker-assisted selection (MAS). The main results highlight the importance of genetic mapping for further improvement of cherry varieties, as well as the need for more modern phenotyping protocols to identify resistant and productive genotypes

Ключевые слова: *PRUNUS AVIUM*, *P. CERASUS*, QTL, МАРКЕР-ОПОСРЕДОВАННАЯ СЕЛЕКЦИЯ, КО-ЛОКАЛИЗАЦИЯ

Keywords: *PRUNUS AVIUM*, *P. CERASUS*, QTL, MARKER-ASSISTED SELECTION, CO-LOCALIZATION

<http://dx.doi.org/10.21515/1990-4665-221-031>

Введение

Селекция черешни является активной областью исследований и включает в себя все большее количество государственных и частных программ. Основные аспекты методологии и достижения в этой области были рассмотрены такими авторами, как Bargioni, 1996; Sansavini and Lugli, 2008; Kappel et al., 2012; Iezzoni, 1996; Schuster et al., 2017 [1,2,3]. Селекция черешни характеризуется длительным ювенильным периодом, требует больших площадей садов для фенотипической оценки, а получение большого количества семян в контролируемых скрещиваниях представляет собой довольно сложную задачу. Для черешни дополнительной сложностью является низкая завязываемость плодов из-за ее сегментарной аллотетраплоидной природы. При селекции сортов, устойчивых к болезням, было выявлено очень мало источников устойчивости в рамках культивируемого пула, однако проводилась некоторая межвидовая гибридизация с мелкоплодными видами [4]. Тем не менее, в последнее время было выведено много новых сортов, и это, в сочетании с использованием карликовых или полукарликовых подвоев, способствовало росту и расширению выращивания черешни во всем мире. Хотя большинство традиционных селекционных программ в Европе и Северной Америке остаются активными, новые программы были запущены в особенно активных странах, таких как Чили, Испания и Китай [5]. В 1990-х годах был достигнут значительный прогресс в изучении молекулярной основы сложной системы гаметофитной самонесовместимости (GSI) черешни. Впоследствии стали

<http://ej.kubagro.ru/2026/07/pdf/31.pdf>

доступны молекулярные маркеры для рутинной характеристики S-аллелей каждого нового сорта [6] и сегодня эта информация доступна для сотен сортов. В то же время были начаты первые исследования, направленные на изучение генетической архитектуры сложных агрономических признаков черешни. Первым шагом стало построение генетических карт, за которыми последовали исследования по выявлению QTL («локусов количественных признаков»). Наиболее важные результаты анализа выявления QTL, а также их потенциальное применение в программах маркер-ориентированной селекции (MAS) были недавно обобщены [7,8].

Цель работы - проанализировать настоящее и будущее селекции черешни с использованием маркеров, охватывающих широкий спектр важных агрономических признаков, таких как признаки, связанные с фенологией (даты цветения и созревания), продуктивностью, массой и твердостью плодов, устойчивостью к растрескиванию плодов под воздействием дождя, сладостью и кислотностью плодов, цветом кожуры и мякоти плодов, а также устойчивостью к пятнистости листьев черешни.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растительный материал для черешни (*Prunus avium* L.) в исследованиях по выявлению QTL были использованы четыре популяции. Три из них были высажены в INRA-Bordeaux и получены в результате следующих скрещиваний: 'Regina' × 'Lapins' (R×L), 'Regina' × 'Garnet' (R×G) и 'Fercer' × 'X' (F×X), с численностью популяции 122, 117 и 67 особей соответственно. Для скрещивания 'Fercer' × 'X' известен только материнский родитель, 'Fercer', поэтому отцовский родитель был назван 'X'. Последнее потомство было высажено в MSU и получено в результате скрещивания 'Emperor Francis' и 'New York 54', которое представляет собой клональную селекцию в популяции маззарда. Это потомство состояло из 190 гибридов. Материалы

кислой вишни (*Prunus cerasus* L.), изученные в Университете штата Мичиган, включают популяцию из 67 потомков от скрещивания ‘Ujefertoi Furtos’ × ‘Surefire’ (UF×Surefire). Пятнистость листьев вишни.

Устойчивость изучалась с использованием межвидовых скрещиваний между черешней и кислой черешней и видом *Prunus canescens*, являющимся донором устойчивости [1]. Оценка признаков. Все потомки высаживались без повторений, то есть каждое дерево представляло один генотип, и каждый гибрид высаживался на собственные корни, без прививки. Следовательно, реальных биологических повторений нет. Единственный способ получить повторные измерения — это проводить оценку признаков в течение нескольких последовательных лет. Для каждого признака было получено как минимум 3 года данных, а для других — до 10 лет данных. Срок цветения был дополнительно проанализирован путем изучения требований к холоду и теплу у потомков R×G. Оценка проводилась путем определения даты выхода из состояния эндодормантности для каждого гибрида с помощью экспериментов по принудительному плодоношению [9]. Плодоносность измерялась на трех популяциях черешни в INRA Bordeaux с использованием качественного индекса, варьирующегося от 0 (отсутствие плодов на дереве) до 9 (чрезвычайно продуктивное дерево). В течение двух лет в популяциях R×L и R×G использовалась более количественная методология. С каждого дерева отбирали четыре ветви, и подсчитывали все цветки, образовавшиеся на каждой ветви. Затем подсчитывали оплодотворенные цветки, что позволяло оценить завязываемость плодов у каждого гибрида. При сборе урожая количество плодов, достигших зрелости, позволяло измерить процент опадания плодов и в целом — индекс продуктивности, основанный на соотношении количества плодов к количеству цветков. В МГУ вес плодов

изучали, выбирая 10 самых крупных плодов с каждого дерева, тогда как в INRA-Bordeaux рассматривали среднее значение в 100 или 50 плодов [10].

Что касается твердости плодов, в INRA Bordeaux использовали пенетрометр Durofel, проводя два измерения на каждый плод на выборке из 10 плодов с дерева. Одним из наиболее часто используемых протоколов для изучения устойчивости к растрескиванию под воздействием дождя является тест *in vitro*, также называемый тестом Кристенсена, основанный на погружении неповрежденных вишен в дистиллированную воду и подсчете растрескавшихся плодов каждые два часа в течение как минимум шести часов [11]. Хотя этот тест широко использовался, опыт INRA-Bordeaux показал непоследовательную связь между результатами этого теста и тем, что действительно наблюдалось в полевых условиях с точки зрения устойчивости к растрескиванию. По этой причине была внедрена методология, основанная на подсчете растрескавшихся плодов при сборе урожая. Одним из новаторских аспектов стало разграничение различных типов растрескивания. Первоначально рассматривались четыре типа растрескивания: на пестиковом конце, на плодоножке, на боковой поверхности плода и вдоль шва плода. Однако, поскольку последний тип растрескивания редко наблюдался в оцениваемом потомстве, далее рассматривались только первые три типа. В течение двух лет результаты теста Кристенсена и наблюдения за плодами в полевых условиях регистрировались и сравнивались [12,13]. Только частота растрескивания на пестиковом конце показала значительную и относительно высокую корреляцию между тестом Кристенсена и полевым тестом. Еще одной причиной, которая была признана в пользу полевого теста, было то, что он менее трудоемок, чем тест Кристенсена, когда его необходимо проводить на большом количестве особей. В первые годы исследования было осмотрено по 100 плодов; позже было проанализировано 50, и результаты

QTL были стабильно сопоставимы. Сладость плодов оценивали путем измерения рефрактометрического индекса, а кислотность плодов измеряли как по pH, так и по титруемой кислотности. Для измерений использовали сок 15-20 плодов каждого генотипа. Анализ данных для различных рассматриваемых популяций генетические карты были построены с помощью программного обеспечения JoinMap. Большинство генетических карт были основаны на генотипировании SSR- или SNP-маркеров, последние доступны благодаря использованию массива 6K SNP, разработанного в рамках проекта RosBREED [14]. Анализ обнаружения QTL проводился либо с помощью программного обеспечения MultiQTL, либо с помощью FlexQTL.

Программное обеспечение MultiQTL позволило объединить данные за несколько лет с помощью модуля «многосредовые исследования», тогда как FlexQTL использовался для одновременного анализа различных популяций, демонстрирующих родственные связи. Графическое представление QTL было выполнено с помощью программного обеспечения MapChart.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Что касается фенологических признаков, первые исследования были проведены по времени цветения. У черешни данные были зарегистрированы за 11, 9 и 6 лет для популяций R×L, R×G и F×X соответственно, путем оценки трех разных дат: начала цветения, полного цветения и окончания цветения. Анализ QTL показал, что этот признак является высокополигенным, с QTL, обнаруженными на всех группах сцепления (LG). Среди видов рода *Prunus* наблюдался важный уровень синтенции, поскольку многие из обнаруженных QTL ко-локализовались в схожих позициях [16]. Рассматривая популяцию R×L, наиболее важные QTL были обнаружены на LG 4 и 6, на родительских картах сортов «Regina» и «Lapins», со средним процентом объясненной дисперсии (PEV) в многолетнем масштабе 24 и 21% соответственно. Для

популяции R×G QTL на LG R4 имел PEV 35%, тогда как QTL на LG G6 объяснял 11,5% дисперсии. Наконец, в популяциях F×X были обнаружены три QTL: LG F1, LG X3 и LG X7, с PEV 16, 18 и 13 соответственно. Таким образом, рассматривая все популяции вместе, наиболее значимыми локусами хромосом (ЛХ) оказались 1, 3, 4, 6 и 7, что в значительной степени согласуется с результатами, полученными для других видов рода *Prunus*, таких как персик (Fan et al., 2010) или абрикос (Olukolu et al., 2009). В течение трех последовательных лет время цветения было разделено на потребности в охлаждении и тепле (здесь называемые CR и HR) в популяции R×G. Что касается времени цветения, то как CR, так и HR также оказались высокополигенными. В целом, была обнаружена хорошая ко-локализация между QTL CR и HR и QTL, ранее обнаруженными для времени цветения. Опять же, наиболее важный QTL был обнаружен на ЛХ4 сорта «Regina». HR оказался менее наследуемым признаком по сравнению с CR в исследуемой популяции [12]. Функциональные гены-кандидаты были идентифицированы в пределах доверительных интервалов наиболее важных QTL. На хромосоме LG4 несколько CG-локусов, участвующих в различных путях, контролирующих время цветения у модельных видов, таких как *Arabidopsis*, были картированы в пределах доверительного интервала основных обнаруженных QTL [15]. С практической точки зрения, в некоторых из этих последовательностей CG-локусов были обнаружены полиморфизмы SNP, которые позволили дифференцировать поздноцветущий родительский сорт «Regina» от раноцветущих родительских сортов «Lapins» и «Garnet». Были установлены гаплотипы, и потомство было ранжировано в соответствии с этими гаплотипами. Был сделан вывод, что в зависимости от рассматриваемого гаплотипа может быть достигнута значительная разница во времени цветения [9]. Например, в популяции R×G была обнаружена средняя

разница в 3,2 дня. Этот результат показывает, что сегодня, выбирая поздноцветущие предки, такие как «Регина», селекционеры могут использовать аллельную информацию на LG4 для отбора поздноцветущих гибридов, если одной из их целей является предотвращение риска весенних заморозков. Необходимо еще проверить наличие этого QTL на других генетических фонах, чтобы оценить его потенциальное использование в селекции с использованием маркеров. С другой стороны, необходимы дальнейшие исследования для выявления того, какие QTL/гены отвечают за сверхраннее цветение некоторых сортов, таких как испанский местный сорт «Кристовалина». Действительно, одной из целей селекционеров черешни в теплых регионах является разработка сортов, требующих минимального количества холода и хорошо адаптированных к мягкой осени и зиме. Несколько селекционных программ начали использовать такие материалы, как «Кристовалина» [1,2,3], и поэтому возможность отбора на стадии сеянцев для раннего цветения была бы очень стратегической. Благодаря естественному отбору, кислая вишня, относящаяся к роду *Prunus*, может демонстрировать чрезвычайно позднее цветение. Например, в Мичиганском государственном университете один саженец (под названием «26e-04-20») зацвел очень поздно, в то время как эталонный сорт «Монморанси», посаженный на том же месте, уже дал плоды, диаметр которых достиг ~2 см. Родителями этого поздноцветущего сорта являются сорта «Тамарис» (из «Мичуринска», Россия) и «Уйфехертой Фуртош» (из «Уйфехерто», Венгрия). В целом считается, что сорта кислой вишни цветут значительно позже, чем черешня, предположительно из-за аллелей от родительского вида *Prunus fruticosa*. При анализе популяции, полученной в результате скрещивания сортов «Ujfehertoi Furtos» и «Surefire», было обнаружено, что оба родителя имели по одной копии аллеля позднего цветения на хромосоме LG4, который

картировался вблизи локуса «позднего цветения» (Lb), уже идентифицированного у миндаля Баллестером и др. Были получены значительные различия между средними значениями времени цветения для потомства «UF» × «Surefire», у которого либо не было, либо был хотя бы один гаплотип LG4 позднего цветения

Разница между средними датами цветения (ДЦ) групп потомства ‘UF’ × ‘Surefire’, имеющих или не имеющих позднецветущий гаплотип для локуса Lb (Ballester et al., 2001). ДЦ регистрировалась, когда 50% цветков на дереве были открыты, и переводилась в градусо-дни роста (ГДД) при базовой температуре 4,4°C. Столбики представляют стандартные ошибки. Что касается периода созревания, то этот признак, как и время цветения, оказался высокополигенным, и у черешни было обнаружено множество QTL. Тем не менее, для популяции F×X основной QTL, объясняющий 50% фенотипической изменчивости, был идентифицирован на LG X4 (Рисунок 2), в очень близком регионе к тому, который уже был обнаружен у других видов *Prunus*, таких как персик или абрикос (Dirlewanger et al., 2012; Pirona et al., 2013). Интересно, что этот QTL не был обнаружен у сортов «Регина», «Липинс» и «Гарнет». Следовательно, другие, менее значимые QTL объясняют наблюдаемую фенотипическую изменчивость в популяциях R×L и R×G. Этот результат предполагает, что QTL на LG4, вероятно, «закрепился» у многих сортов промежуточного или позднего созревания и будет эффективен в методах селекции с использованием маркеров только при использовании ранних сортов в качестве родительских форм. Действительно, хотя мы игнорируем идентичность родительского сорта «X», мы знаем, что период созревания у него должен быть близок к периоду созревания «Бурлата», поскольку многие гибриды F×X созревают в аналогичный период, как и «Бурлат».

Обнаружение QTL для даты созревания в популяции F×X. Показаны только QTL, обнаруженные путем объединения данных за несколько лет («многосредовая» опция программного обеспечения MultiQTL). Для каждого QTL указан объясненный процент дисперсии. Для признака «продуктивность» наиболее интересные QTL были обнаружены в популяции R×G. В частности, на линиях гибридов R1 и R6 были выявлены два высокостабильных QTL. На многолетнем уровне первый имел REV 10, а второй — 18. Интересно, что при более количественном изучении продуктивности два QTL для признаков «завязывание плодов» и «соотношение плодов/цветков» были обнаружены точно в тех же позициях, что и при качественной оценке продуктивности. Одно из отличий заключалось в том, что количественно оцененные QTL объясняли более высокие значения дисперсии и показывали меньшие доверительные интервалы. Очевидно, что при более систематической и количественной оценке продуктивности повышается точность. Однако этот тип фенотипирования гораздо более трудоемок и не может быть проведен на тысячах гибридов. Для популяции R×G количественные данные о продуктивности доступны только за 2016 год, поэтому будет интересно проверить, обнаружены ли эти QTL также в 2017 году. Оба QTL на LG 1 и 6 охватывают доверительный интервал ниже 10 cM и, следовательно, уже могут быть рассмотрены для селекции с использованием маркеров. Масса плода, несомненно, является наиболее важным агрономическим признаком как для сладкой, так и для кислой черешни. Это был первый признак, для которого были проведены тщательные генетические исследования. В 2010 году Чжан и др. (2010), работая с популяцией «Император Франциск» × «NY 54» (EF×NY), обнаружили два основных QTL на LG 2 и 6. Для первого из них QTL размера плода сгруппировался с QTL количества клеток, что

предполагает, что увеличение размера плода связано с увеличением количества клеток мезокарпа. Мелкоплодный аллель этого локуса произошел от дикого родительского сорта черешни «NY54», что указывает на возможную связь этого локуса с одомашниванием. На основе этих многообещающих результатов Де Франчески и др. (2013) установили геномное положение генов регуляторов количества клеток (CNR) в геноме *Prunus*. Два из этих генов располагались в пределах доверительных интервалов основных QTL на хромосомах LG2 и 6 и были названы *PavCNR12* и *PavCNR20* соответственно. Для углубления наших знаний о генетическом детерминизме массы плодов Розяра и др. В 2013 году был проведен многородительский анализ на основе родословной с использованием программного обеспечения FlexQTL путем объединения данных из $R \times L$, $EF \times NY$ и двух популяций, полученных в результате скрещивания сортов «Намати» и «Саммит», а также «Намати» и «Крупноплодная», выращенных в Дрездене, Германия (М. Шустер, личное сообщение). Были идентифицированы четыре основных QTL-региона на LG 1, 2, 3 и 6, при этом на LG2 было обнаружено 3 QTL. Первоначальный QTL-регион на LG2, обнаруженный Чжаном и др. (2010), был ограничен двумя SSR-маркерами, CPSC038 и BPPC034, охватывающими область в 16 сМ (Клаггес и др., 2013). Это высокополиморфные маркеры, которые в настоящее время используются в нескольких селекционных программах. На данный момент для обоих SSR-маркеров идентифицировано семь и четыре аллеля соответственно[8].

Анализируемые гаплотипы связаны с небольшим размером плодов, поэтому особи с такими гаплотипами вряд ли будут иметь крупные плоды и могут быть исключены до посадки в поле. Тем не менее, необходимы дальнейшие исследования картирования для более точного определения

локусов, контролирующих размер плодов в этом регионе, с последующей разработкой дополнительных ДНК-маркеров. С другой стороны, весьма вероятно, что многие из самых современных сортов несут благоприятные аллели для этого QTL массы плода, например, гаплотипы CRRST038-190 и BRRST034-255 [5,6]. Это относится к нескольким современным сортам INRA, таким как «Folfer», «Ferdiva», «Fertard» (Quero-García et al., неопубликованные результаты). Следовательно, при скрещивании двух таких сортов, если MAS должен быть эффективен для массы плода, необходимо использовать локусы на других группах сцепления. Помимо массы плода, очень важным признаком является также его твердость, которая, как представляется, часто коррелирует с массой плода. В популяциях $R \times L$ и $R \times G$ эта корреляция была отрицательной; однако это может быть связано с тем, что многие гибриды из этих скрещиваний имели настолько малый размер плодов, что доля мякоти плода по отношению к косточке была довольно низкой, и, следовательно, их твердость была очень высокой. Другими словами, вероятно, что в разных генетических фонах эта отрицательная корреляция может не наблюдаться. Кампой и др. (2015) изучали генетическую детерминированность массы и твердости плодов в обеих популяциях в течение длительного периода времени и подтвердили многочисленные ко-локализации между QTL массы и твердости плодов. Кроме того, в нижней части LG5 для родительского сорта «Регина» при работе с популяцией $R \times G$ был обнаружен новый геномный регион, несущий важный QTL для обоих признаков, и более точно для твердости плодов (среднее многолетнее значение PEV 24).

Растрескивание плодов — очень сложный признак, зависящий от множества факторов. Поэтому большинство обнаруженных QTL были крайне нестабильны, то есть обнаруживались один или два раза за весь период

исследования, который длился 8 лет как для популяций $R \times L$, так и для $R \times G$ (таблицы 1 и 2). Тем не менее, в обеих популяциях был обнаружен высокостабильный QTL для растрескивания пестика (PI) на LG5 сорта «Регина». Кроме того, в некоторые годы, как правило, в те, когда регистрировалось больше осадков (данные не показаны), PEV этого QTL мог быть относительно высоким, достигая максимума в 23 для $R \times L$ и 27 для $R \times G$. Неудивительно, что наиболее стабильные QTL были обнаружены для растрескивания пестика, поскольку этот признак оказался более наследуемым (наблюдалась более высокая межгодовая корреляция), чем растрескивание у плодоножки (SE) или со стороны плода (FS). Тем не менее, для этих признаков были также обнаружены интересные QTL: например, в популяции $R \times L$

В популяции, в течение 5 лет, на хромосоме LG4 сорта «Larins» был обнаружен QTL для растрескивания SE с максимальным значением PEV 16,6, тогда как в популяции $R \times G$ на хромосоме LG2 сорта «Regina» в течение 5 лет также был обнаружен QTL для растрескивания FS с максимальным значением PEV 19,5. Большинство обнаруженных QTL показали очень большие доверительные интервалы, что указывает на необходимость проведения дальнейших исследований либо путем увеличения размера потомства, либо путем внедрения новых и более надежных протоколов фенотипирования для оценки устойчивости к растрескиванию. К сожалению, в настоящее время они еще недоступны [3]. Другая традиционная стратегия уменьшения доверительных интервалов QTL — это поиск генов-кандидатов. В сотрудничестве с группой профессора... Герман Сильва из Университета Сантьяго (Чили), недавно выявивший с помощью экспериментов RNASeq гены, потенциально связанные с устойчивостью к растрескиванию, провел *in silico* картирование некоторых из этих генов на картах черешни для проверки

предполагаемой ко-локализации QTL/CG (рис. 3). Хотя большинство доверительных интервалов QTL все еще слишком велики, несколько ко-локализий уже можно считать многообещающими. Вкус черешни обычно определяется хорошим балансом между сахарами и кислотами. При изучении генетического детерминизма рефрактометрического индекса (RI), pH и титруемой кислотности (TA) вишневых соков было обнаружено гораздо больше QTL для признаков, связанных с кислотностью (pH и TA), чем с сахарами (RI) (рис. 4). Наиболее стабильные QTL были обнаружены в популяции R×G, причем два LG, 1 и 6, представляют особый интерес благодаря высокой стабильности обнаружения, высоким значениям PEV и малым доверительным интервалам. В селекционных программах, направленных на поиск сортов с особенно низкими значениями кислотности, эти QTL могут представлять интерес для MAS, при условии, что их наличие проверяется на разных генетических фонах.

Цвет плодов черешни является важным признаком как в программах выращивания сладкой, так и кислой черешни. В сладкой черешни, хотя румяные вишни, такие как всемирно известный сорт «Rainier», высоко ценятся, в ряде селекционных программ предпочтение отдается красным (или цвета красного дерева) вишням. В кислой черешни могут встречаться разные ситуации: например, многие страны Центральной и Восточной Европы отдают предпочтение сортам с красным или темно-красным соком («тип Morello»), тогда как в США цель состоит в создании новых сортов с бесцветным соком, таких как эталонный сорт «Montmorency» («тип Amarelle»). В 2010 году Sooriyapathirana et al. обнаружили основной QTL для цвета плодов сладкой черешни на LG3. В доверительном интервале QTL был обнаружен ген-кандидат MYB10, который уже был выявлен у яблони. Впоследствии был проведен ДНК-тест с использованием SSR-маркеров,

локус получил название Rf со следующей схемой наследования: rfrf = румяный цвет кожуры и желтая мякоть; Rfrf = красный цвет кожуры и мякоти; RfRf = цвет кожуры и мякоти цвета красного дерева (Sandefur et al., 2016). Таким образом, признак «красный цвет» является доминантным по отношению к «желтому цвету», поэтому, например, при скрещивании сортов «Регина» и «Бинг», которые оба гетерозиготны по этому признаку, четверть потомства, как ожидается, будет иметь светлую кожуру и мякоть. У кислой вишни, основываясь на изменчивости, обнаруженной вокруг локуса MYB10, был проведен ДНК-тест.

Также был разработан тест для прогнозирования цвета мякоти [13]. Среди различных идентифицированных аллелей, аллель D1, как было установлено, придает самый темный красный цвет.

В заключение, различные исследования, проведенные в INRA-Bordeaux и в Мичиганском государственном университете, некоторые из которых были выполнены в сотрудничестве с сотрудниками других институтов, позволили выявить многочисленные QTL для многих признаков, представляющих агрономический интерес. Крупнейшие и наиболее стабильные QTL, которые могут быть использованы в будущих стратегиях маркерной селекции черешни, расположены на: LG 1, 4, 7 для времени цветения; 1 и 4 для периода созревания; 1 и 6 для продуктивности; 1, 2, 3, 5 и 6 для массы плода; 2, 4, 5 и 6 для твердости плода; 2, 4 и 5 для устойчивости к растрескиванию; 1 и 6 для кислотности и 3 для цвета плода. Однако весьма вероятно, что при проведении новых исследований по выявлению QTL другими группами и на разных генетических фонах будут обнаружены новые регионы QTL. Сегодня MAS (маркерная селекция) используется в рутинной практике для определения массы и цвета плодов, а также самоопыления. Уже сейчас можно разработать эффективные стратегии для таких признаков, как время цветения,

период созревания и твердость плодов. Что касается устойчивости к растрескиванию плодов, этот признак очень сложен, и необходимы дальнейшие исследования для уточнения выявления наиболее перспективных QTL. Что касается продуктивности, два основных обнаруженных QTL следует проверить на дополнительных генетических фонах, чтобы оценить их потенциальную значимость. Помимо повышения эффективности выявления QTL с точки зрения процента объясненной дисперсии и доверительного интервала, еще одним важным вопросом, который необходимо проверить на вишнях, является стабильность этих QTL в различных условиях окружающей среды. В настоящее время реализуются два подхода: во-первых, картирующая популяция R×L была воспроизведена и высажена в двух клональных копиях в шести европейских местах (Бордо и Ним во Франции, Марибор в Словении, Мурсия в Испании, Форли в Италии и Кент в Соединенном Королевстве). Во-вторых, особи, оцененные в различных местах, используются для изучения фенотипического ответа общегеномных аллелей на различные условия окружающей среды. Данные SNP используются для характеристики вариаций в аллелях QTL, а также в аллелях с незначительным эффектом, так что данные из этих разных мест могут быть объединены в многосредовом анализе [1,4,3]. Как упоминалось ранее, ко-локализация различных QTL признаков представляет собой важную проблему для эффективного MAS, и необходимо разработать методы точного картирования для более точного определения местоположения всех задействованных локусов. В INRA-Bordeaux в 2010 году была создана популяция из 1400 деревьев, полученных в результате скрещивания сортов «Regina» и «Garnet», которые были высажены в поле в 2012 году, а их фенотипирование и генотипирование начнутся в 2018 году. Наряду с классическими исследованиями картирования, недавно были также внедрены другие подходы, такие как ассоциативная генетика и геномная

селекция, в черешне. Наконец, для очень сложных признаков, таких как устойчивость к растрескиванию под воздействием дождя, или для других признаков, оценка которых является трудоемкой, таких как твердость плодов или сладость и кислотность плодов, было бы полезно разработать более надежные и высокопроизводительные протоколы фенотипирования.

БЛАГОДАРНОСТИ Авторы выражают благодарность Жаку Жоли из технического персонала команды АЗС, активно участвовавшему в мероприятиях по фенотипированию, проводимых в INRA-Bordeaux. Мы также благодарим UEA («Экспериментальное подразделение по изучению деревьев»), которое является экспериментальным подразделением INRA-Bordeaux и отвечает за управление нашими вишневыми садами. В рамках UEA мы особенно благодарим Давида Аллетру и Жюльена Парментье, которые с 2014 года участвуют в фенотипировании потомства, используемого для картирования сортов [15,16].

Выводы

Проведённый анализ исследования показал, что использование молекулярных маркеров и методов маркер-опосредованной селекции (MAS) открывает широкие перспективы для совершенствования селекции черешни. В результате анализа различных популяций были выявлены многочисленные локусы количественных признаков (QTL), связанные с важнейшими хозяйственно ценными признаками, включая сроки цветения и созревания, продуктивность, массу и твёрдость плодов, устойчивость к растрескиванию, кислотность и окраску плодов.

Наиболее стабильные и перспективные QTL были обнаружены для признаков времени цветения, массы плодов, твёрдости и окраски плодов, что подтверждает возможность их практического применения в программах селекции. Уже сегодня методы MAS успешно используются для отбора по

признакам самооплодотворения, окраски и массы плодов. Кроме того, полученные результаты показывают высокий потенциал применения MAS для отбора поздноцветущих генотипов, устойчивых к весенним заморозкам, а также сортов с улучшенными показателями качества плодов.

Вместе с тем установлено, что многие агрономические признаки имеют сложную полигенную природу и существенно зависят от условий окружающей среды. Это особенно относится к устойчивости плодов к растрескиванию и показателям продуктивности, для которых необходимы дополнительные исследования, направленные на уточнение QTL и проверку их стабильности в различных генетических фонах и климатических условиях.

Перспективными направлениями дальнейших исследований являются точное картирование QTL, изучение взаимодействия генотипа и среды (QTL×E), применение ассоциативной генетики и геномной селекции, а также разработка высокоточных методов фенотипирования. Важным ресурсом для дальнейшего прогресса станет полная последовательность генома черешни сорта «Регина», которая позволит значительно повысить эффективность генетических исследований и селекционных программ. интеграция молекулярно-генетических технологий в традиционную селекцию создаёт основу для ускоренного создания высокопродуктивных, устойчивых и адаптированных сортов черешни.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ballester, J., Socias i Company, R., Arús, P., and de Vicente, M.C. (2001). Genetic mapping of a major gene delaying blooming time in almond. *Plant Breed.* 120 (3), 268–270.
2. Bargioni, G. (1996). Sweet cherry scions. Characteristics of the principal commercial cultivars, breeding objectives and methods. In *Cherries: Crop Physiology, Production and Uses*, A.D. Webster, and N.E. Looney, eds. (CAB International, Wallingford, Oxon, UK), p.73–112.
3. Цай, Л., Воррипс, Р.Е., ван де Бер, Э., Пис, К., и Иеццони, А. (2017). Генетическая структура горячей точки QTL на хромосоме 2 у черешни указывает на положительный отбор благоприятных гаплотипов. *Mol. Breed.* 37 (7), 85.

4. Кампой, Дж.А., Ле Дантек, Л., Барренече, Т., Дирлевангер, Э., и Кери-Гарсия, Дж. (2015). Новые данные о твердости плодов и контроле веса у черешни. *Plant Molecular Biology Reporter* 33 (4), 783–796.

5. С., Кампой, Дж.А., Гарсия, Дж.К., Ле Дантек, Л., Лафарг, М., Барренеш, Т., Венден, Б., и Дирлевангер, Э. (2014). Генетический детерминизм фенологических признаков, сильно зависящих от изменения климата у *Prunus avium*: дата цветения, разделенная на требования к охлаждению и теплу. *New Phytol.* 202 (2), 703–715.

6. С., Кампой, Дж.А., Ле Дантек, Л., Кери-Гарсия, Дж., Барренеш, Т., Венден, Б., и Дирлевангер, Э. (2015). Картирование генов-кандидатов, участвующих в периоде покоя почек и времени цветения черешни (*Prunus avium*). *PLoS ONE* 10 (11).

7. Christensen, J.V. (1996). Растрескивание черешни, вызванное дождем: причины и профилактика. В книге «Черешня: физиология, производство и использование сельскохозяйственных культур», под редакцией A.D. Webster и N.E. Looney. (CAB International, Уоллингфорд, Оксфордшир, Великобритания), стр. 297–327.

8. Де Франчески, П., Стегмейер, Т., Кабрера, А., ван дер Кнаап, Э., Розьяра, У.Р., Себолт, А.М., Дондини, Л., Дирлевангер, Э., Кери-Гарсия, Дж., Кампой, Дж.А., и Иеццони, А.Ф. (2013). Гены-регуляторы количества клеток у *Prunus* являются кандидатами на роль генов, контролирующих размер плодов у кисло-сладкой черешни. *Mol. Breed.* 32 (2), 311–326.

9. E., Quero-García, J., Le Dantec, L., Lambert, P., Ruiz, D., Dondini, L., Illa, E., Quilot-Turion, B., Audergon, J.M., Tartarini, S., et al. (2012). Comparison of the genetic determinism of two key phenological traits, flowering and maturity dates, in three *Prunus* species: peach, apricot and sweet cherry. *Heredity (Edinb.)* 109 (5), 280–292.

10. S., Bielenberg, D.G., Zhebentyayeva, T.N., Reighard, G.L., Okie, W.R., Holland, D., and Abbott, A.G. (2010). Картирование локусов количественных признаков, связанных с потребностью в охлаждении, потребностью в тепле и датой цветения персика (*Prunus persica*). *New Phytol.* 185 (4), 917–930.

11. C., Peace, C., Quero-Garcia, J., Vanderzande, S., Giovannini, D., Barreneche, T., Campoy, J.A., Charlot, G., Liverani, A., Oraguzie, N., et al. (2017). Создание международных партнерств для сбора исторических данных с целью изучения экологической стабильности геномных прогнозов у черешни. Постер представлен на: 8-м Международном симпозиуме по черешне (Ямагата, Япония: ISHS).

12. М., Родриго, Дж., и Вюнш, А. (2017). Цветение, завязывание плодов и развитие. В книге «Черешня: ботаника, производство и использование».

13. Хёфер М., Джованнини Д., Йенсен М., Кери-Гарсия Дж., Кампой Дж.А., Вокурка А. и Барренеш Т. (2017). Биоразнообразие, ресурсы зародышевой плазмы и методы селекции. В книге «Вишня: ботаника, производство и использование».

14. Ф., Грейнджер, А., Хротко, К., и Шустер, М. (2012). Вишня. В книге «Селекция плодовых культур: Справочник по растениям и селекции» стр. 459–504.

15. К., Кампой, Дж.А., Кери-Гарсия, Дж., Гусман, А., Мансур, Л., Гратакосю Э. Сильва, Х., Розьяра, У.Р., Иеццони, А., Мейзель, Л.А., и Дирлевангер, Э. (2013). Построение и сравнительный анализ высокоплотных карт сцепления двух внутривидовых потомков черешни коммерческих сортов. *PLoS ONE* 8 (1).

16. Knoche, M., and Winkler, M. (2017). Rain-induced cracking of sweet cherry. In *Cherries: Botany, Production*

SPISOK LITERATURY`

1. Ballester, J., Socias i Company, R., Arú s, P., and de Vicente, M.C. (2001). Genetic mapping of a major gene delaying blooming time in almond. *Plant Breed.* 120 (3), 268–270.
2. Bargioni, G. (1996). Sweet cherry scions. Characteristics of the principal commercial cultivars, breeding objectives and methods. In *Cherries: Crop Physiology, Production and Uses*, A.D. Webster, and N.E. Looney, eds. (CAB International, Wallingford, Oxon, UK), p.73–112.
3. Czaj, L., Vorrips, R.E., van de Veg, E., Pis, K., i Ieczczoni, A. (2017). Geneticheskaya struktura goryachej točki QTL na xromosome 2 u chereshni ukazy`vaet na polozhitel`ny`j otkor blagopriyatny`x gaplotipov. *Mol. Breed.* 37 (7), 85.
4. Kampoj, Dzh.A., Le Dantek, L., Barreneche, T., Dirlevanger, E., i Kero-Garsiya, Dzh. (2015). Novy`e danny`e o tverdosti plodov i kontrole vesa u chereshni. *Plant Molecular Biology Reporter* 33 (4), 783–796.
5. S., Kampoj, Dzh.A., Garsiya, Dzh.K., Le Dantek, L., Lafarg, M., Barrenesh, T., Venden, B., i Dirlevanger, E. (2014). Geneticheskij determinizm fenologicheskix priznakov, sil`no zavisiyashhix ot izmeneniya klimata u *Prunus avium*: data czveteniya, razdelennaya na trebovaniya k oxlazhdeniyu i teplu. *New Phytol.* 202 (2), 703–715.
6. S., Kampoj, Dzh.A., Le Dantek, L., Kero-Garsiya, Dzh., Barrenesh, T., Venden, B., i Dirlevanger, E. (2015). Kartirovanie genov-kandidatov, uchastvuyushhix v periode pokoya pohek i vremeni czveteniya chereshni (*Prunus avium*). *PLoS ONE* 10 (11).
7. Christensen, J.V. (1996). Rastreskivanie chereshni, vy`zvanoe dozhdem: prichiny` i profilaktika. V knige «Chereshnya: fiziologiya, proizvodstvo i ispol`zovanie sel`skoxozyajstvenny`x kul`tur», pod redakciej A.D. Webster i N.E. Looney. (CAB International, Uollingford, Oksfordshir, Velikobritaniya), str. 297–327.
8. De Francheski, P., Stegmejer, T., Kabrera, A., van der Knaap, E., Roz`yara, U.R., Sebolt, A.M., Dondini, L., Dirlevanger, E., Kvero-Garsiya, Dzh., Kampoj, Dzh.A., i Ieczczoni, A.F. (2013). Geny`-regulyatory` kolichestva kletok u *Prunus yavlyayutsya* kandidatami na rol` genov, kontroliruyushhix razmer plodov u kislodolkoj chereshni. *Mol. Breed.* 32 (2), 311–326.
9. E., Quero-García, J., Le Dantec, L., Lambert, P., Ruiz, D., Dondini, L., Illa, E., Quilot-Turion, B., Audergon, J.M., Tartarini, S., et al. (2012). Comparison of the genetic determinism of two key phenological traits, flowering and maturity dates, in three *Prunus* species: peach, apricot and sweet cherry. *Heredity (Edinb.)* 109 (5), 280–292.
10. S., Bielenberg, D.G., Zhebentyayeva, T.N., Reighard, G.L., Okie, W.R., Holland, D., and Abbott, A.G. (2010). Kartirovanie lokusov kolichestvenny`x priznakov, svyazanny`x s potrebnost`yu v oxlazhdenii, potrebnost`yu v teple i datoj czveteniya persika (*Prunus persica*). *New Phytol.* 185 (4), 917–930.
11. C., Peace, C., Quero-Garcia, J., Vanderzande, S., Giovannini, D., Barreneche, T., Campoy, J.A., Charlot, G., Liverani, A., Oraguzie, N., et al. (2017). Sozdanie mezhdunarodny`x partnerstv dlya sbora istoricheskix danny`x s cel`yu izucheniya e`kologicheskoy stabil`nosti genomny`x prognozov u chereshni. Poster predstavlen na: 8-m Mezhdunarodnom simpoziume po chereshne (Yamagata, Yaponiya: ISHS).
12. M., Rodrigo, Dzh., i Vyunsh, A. (2017). Czvetenie, zavyazy`vanie plodov i razvitie. V knige «Chereshnya: botanika, proizvodstvo i ispol`zovanie».
13. Xyofer M., Dzhovannini D., Jensen M., Kero-Garsiya Dzh., Kampoj Dzh.A., Vokurka A. i Barrenesh T. (2017). Bioraznoobrazie, resursy` zarody`shevoj plazmy` i metody` selekcii. V knige «Vishnya: botanika, proizvodstvo i ispol`zovanie».
14. F., Grejndzher, A., Xrotko, K., i Shuster, M. (2012). Vishnya. V knige «Selekciya plodovy`x kul`tur: Spravochnik po rasteniyam i selekcii str. 459–504.

15.K., Kampo, Dzh.A., Kero-Garsiya, Dzh., Gusman, A., Mansur, L., Gratakosyu E`. Sil`va, X., Roz`yara, U.R., Ieczczoni, A., Mejzel`, L.A., i Dirlevanger, E`. (2013). Postroenie i sravnitel`ny`j analiz vy`sokoplotny`x kart scepheniya dvux vnutrividovy`x potomkov cheresni kommercheskix sortov. PLoS ONE 8 (1).

16. Knoche, M., and Winkler, M. (2017). Rain-induced cracking of sweet cherry. In Cherries: Botany, Production