

ЭТАПЫ БОЛЬШОГО ПУТИ ОТДЕЛА БИОТЕХНОЛОГИИ ВНИИСС

Т.П. Федулова, доктор биологических наук
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт
сахарной свеклы и сахара имени А.Л. Мазлумова»
e-mail@biotechnologiya.ru

В число старейших сельскохозяйственных институтов России входит ВНИИСС имени А.Л. Мазлумова, деятельность которого насчитывает уже 100 лет. Одним из инновационных структурных подразделений является отдел генетики и биотехнологии с богатым прошлым, насыщенным настоящим и перспективным будущим.

Учитывая важность разработки перспективных методов создания и оценки ценного исходного и селекционного материала и генетически реконструированных форм сахарной свеклы, в 1979 г. под руководством директора института А.И. Туровского была создана лаборатория генетики и цитологии, которую возглавил кандидат сельскохозяйственных наук Н.С. Агафонов.

Ученые начали активно разрабатывать также современные методы цитозембриологии, биотехнологии и молекулярной генетики, ставшие основой для образования на базе данной лаборатории в 1993 г. отдела биотехнологии с группами: физиологии и биохимии; клеточной селекции и генетической трансформации; молекулярной генетики; гаплоидии, микроразмножения и депонирования; апомиксиса; интродукции сахароносных растений. С 1982 по 1992 гг. отделом руководила доктор биологических наук Т.П. Жужалова, с 1993 по 2001 гг. — доктор сельскохозяйственных наук В.В. Знаменская.

В это же время начали активно развиваться исследования по разработке:

- метода микроклонального размножения сахарной свеклы в условиях изолированной культуры, позволяющего проводить массовое вегетативное размножение, длительное сохранение растений в условиях *in vitro* и за короткий срок получать массовое количество микрочеренков оригинальных актуальных линий,



- генетически идентичных исходному материалу. При этом коэффициент мультипликации достигает 105–110 растений в год, что в несколько тысяч раз больше, чем при использовании традиционных методов вегетативного размножения. Клональное микроразмножение и депонирование значительно ускоряют селекционный процесс, сокращая сроки получения новых гибридов с 10–12 до 6–8 лет;

- метода создания гомозиготного исходного материала путем культивирования неоплодотворенных семязачатков *in vitro* (Знаменская В.В., Подвигина О.А., Таратонов Н.А., Васильченко Е.Н.). Исключая многократный инбридинг растений, это позволяет получать гомозиготный материал из обогащенных в генетическом отношении гибридов за 1,5–2 года вместо 8–10 лет при традиционной селекции;

- метод эмбриокультуры — культивирование *in vitro* незрелых и зрелых зародышей сахарной свеклы для преодоления их нежизнеспособности и депонирования селекционно-ценных форм (Подвигина О.А., Фоменко Н.Р., Цупикова Л.А.).

Большой вклад в развитие теоретических и практических основ цито-эмбриологических закономерностей формирования репродуктивных органов различных форм сахарной свеклы при половом и бесполом воспроизведении, касающихся микроспорангия, семязачатка, двойного оплодотворения, зародыша и семени, свидетельствующих о высокой специализации и адаптации растений этого вида к экзогенным и эндогенным воздействиям, внесла заслуженный деятель науки РФ Т.П. Жужалова. Под ее руководством создана большая научная школа, выпускниками которой стали 8 докторов и 8 кандидатов биологических наук, а также разработаны:

- способ получения гомозиготных линий сахарной свеклы (А.С. № 17082210, 1991; Агафонов Н.С., Богомолов М.А., Жужалова Т.П., Федулова Т.П., Корниенко А.В., Попова И.Р.) на основе индуцированных опылений МС растений сахарной свеклы гамма-облученной пылью диких видов свеклы *Beta corolliflora* Zoss. и *B. trigyna* L., позволивший создать более 30 гомозиготных гамма-линий. Линии характеризуются апомиктическим способом формирования семян, различающиеся по генам самостерильности и самофертильности, способностью закреплять ЦМС, высокой комбинационной способностью и раздельноцветковостью. С использованием гамма-линии РФ 2113:

- создан и районирован гибрид РМС 90 (А.С. № 31185, 2001; авторы – М.А. Богомолов, Т.П. Жужалова, Т.П. Федулова, В.В. Знаменская и др.);

- технологии получения растений – регенерантов с признаками устойчивости к абиотическим стрессорам (засолению/засухе, кислотности почвы, тяжелым металлам, к комплексу факторов; Н.Н. Черкасова).

- эффективная система генетической трансформации сахарной свеклы, позволяющая создавать трансгенные растения, обеспечивающие устойчивость к гербицидам широкого спектра действия – глифосату и фосфинотрицину (Н.М. Богомолова, 2001; руководитель А.В. Корниенко).

- способ идентификации сортов сахарной свеклы методом генетического маркирования по изоферментному составу (А.С. № 167299, 1991; авторы – Н.С. Агафонов, Т.П. Федулова, Т.П. Жужалова). Это позволило внедрить в селекционный процесс дополнительно к морфологическим признакам (маркерам) маркирование линий и сортов по 7 генам, контролирующим изоферменты;

- электронная база данных селекционных материалов сахарной свеклы по морфологическим признакам и электрофоретическим компонентам 11



Заведующая отделом генетики и биотехнологии
Т.П. Жужалова

S-глобулинов семян, позволяющая идентифицировать и документировать генофонд культуры. Это дает возможность оперативно управлять информацией в селекции, системах семеноводства и сортоиспытания (Т.П. Федулова, С.Н. Митин, 2005).

Ученые отдела генетики и биотехнологии активно сотрудничают с ведущими научно-исследовательскими центрами России – Институтом цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Институтом общей генетики (Москва), Всероссийским институтом генетических ресурсов растений и Институтом ботаники (г. Санкт-Петербург) и других стран СНГ – Селекционно-генетическим институтом (Одесса, Украина) и Опытной станцией по сахарной свекле (Несвиж, Беларусь), Казахским НИИ земледелия и растениеводства (Алматинская область, п. Алмалыбак).

Для расширения и усиления фундаментальных исследований на базе отдела биотехнологии в 2001 г. были организованы лаборатория биохимии и молекулярной биологии, руководителем которой стала доктор биологических наук Т.П. Федулова, и лаборатория культуры тканей и нетрадиционных сахароносов, которую возглавила доктор сельскохозяйственных наук О.А. Подвигина. Наибольших результатов в разработке и внедрении в селекционный процесс новых методов биотехнологии, молекулярной биологии, апомиксиса добились ученые отдела Т.П. Жужалова, В.В. Знаменская, О.А. Подвигина, Т.П. Федулова,

М.А. Богомолов, И.Н. Горина, А.А. Коновалов, Г.П. Филатов, Н.М. Богомолова, Е.О. Колесникова, Е.Н. Васильченко, Н.Н. Черкасова, Н.Н. Богачева и многие другие.



Заведующая лабораторией
маркер-ориентированной
селекции А.А. Налбандян



Ведущий научный сотрудник лаборатории маркер-ориентированной селекции Т.П. Федулова и молодые ученые

В лаборатории биохимии и молекулярной биологии за эти годы разработана технология создания высокопродуктивных гибридов сахарной свеклы, устойчивых к биотическим и абиотическим стрессорам на основе молекулярной (MAS) селекции (Т.П. Федулова, А.А. Налбандян, Н.Н. Богачева). Данный проект в 2018 г. признан одним из победителей в рамках финала федерального акселератора технологических стартапов Generation S в специальной номинации «Биотехнологии и геномика АПК».

Параллельно с исследованиями по сахарной свекле в отделе проводятся исследования по интродукции и селекции нового сахароносного растения – стевии. Разработаны методы поддержания и микроклонального размножения стевии в культуре *in vitro*, размножения зеленым черенкованием в условиях закрытого грунта (О.А. Подвигина, Е.О. Колесникова). Создана и зарегистрирована в системе «Парус» коллекция сортообразцов, включающая 48 селекционно-ценных генотипов различного происхождения. На основе данной коллекции выведены и зарегистрированы в Государственном реестре селекционных достижений РФ четыре высокопродуктивных, перспективных сорта стевии Рамонская сладена, Услава, София, Славянка (Т.П. Жужалова, В.В. Знаменская, О.А. Подвигина и др.).

За время своего существования отдел генетики и биотехнологии превратился в современный научный центр, известный своими оригинальными фундаментальными и важными прикладными разработками в области молекулярной биологии, генетики и биотехнологии сахарной свеклы.

В 2019 г. согласно нацпроекту «Наука» и ФНТП «Развитие генетических технологий» на базе лаборатории биохимии и молекулярной биологии была создана лаборатория маркер-ориентированной селекции (единственная в России), которая решает задачу усиления фундаментальной составляющей селекционного процесса и его выхода на новый технологический уровень. В составе лаборатории – магистры, аспиранты, инженеры-исследователи, преподавательский

состав ВУЗов г. Воронежа, которыми успешно руководит кандидат биологических наук А.А. Налбандян. При непосредственном и активном руководстве заведующей лабораторией разработана базовая концепция маркер-ориентированной (MAS) селекции, используемая в практическом селекционном процессе сахарной свеклы.

Основная цель исследований новой лаборатории направлена на разработку инновационных технологий использования молекулярно-генетических маркеров в селекционном процессе сахарной свеклы. В настоящее время проводятся научно-исследовательские работы по следующим направлениям:

- разработка новых методов маркирования хозяйственно-ценных генов и признаков сахарной свеклы с использованием ДНК-технологий;
- создание и внедрение технологий генотипирования образцов сахарной свеклы на основе анализа микросателлитных локусов, позволяющих получать индивидуальные характеристики генотипов – ДНК-профили. Внедрение новейших технологий генотипирования позволяет эффективно осуществлять и сопровождать селекционный процесс, усовершенствовать схему идентификации и паспортизации новых селекционных форм, установление подлинности селекционной продукции, защиты авторских прав селекционеров;
- контроль генетической однородности селекционного материала;
- скрининг селекционных материалов на наличие генов устойчивости к биотическим и абиотическим стрессорам;
- изучение молекулярных вариаций данных генов, выявление значимых (nonsynonymous) однонуклеотидных замен (SNP);

ДНК-технологии имеют высокую востребованность в современных селекционно-генетических программах и обеспечивают получение высококачественного селекционного материала, играют важную роль для создания конкурентоспособных гибридов нового поколения культуры.

Большой вклад в развитие методов молекулярной генетики сахарной свеклы вносит кандидат биологических наук, старший научный сотрудник А.С. Хуссейн, проводящий теоретическое и биоинформатическое обоснование данных исследований.

Достижениями научно-исследовательской деятельности на современном этапе являются разработки:

- методики идентификации и паспортизации селекционных материалов сахарной свеклы по ДНК-маркерам;
- методики целенаправленного подбора родительских пар для гибридизации с учетом их генетической удаленности;
- технологии создания гетерозисных гибридов сахарной свеклы, устойчивых к биотическим и абиотическим факторам на основе молекулярной (MAS) селекции;
- методики выявления специфических ДНК-маркеров для идентификации фитопатогенов сахарной свеклы;
- методики выявления специфических ДНК-маркеров для молекулярного отбора образцов сахарной свеклы, устойчивых к болезням;
- методики идентификации агрономически важных и вредных почвенных микроорганизмов *Fusarium*

oxysporum, *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas fluorescens*, *Azotobacter sp.* (с идентификацией гена азотфиксации NifH), *Bacillus sp.*

Перспективы инновационного развития предусматривают:

- разработку технологий клонирования генов хозяйственно-ценных признаков и приемов геномного редактирования с целью создания генетически улучшенного исходного материала сахарной свеклы нового поколения, устойчивого к биотическим и абиотическим факторам;
- разработку молекулярных маркеров, сцепленных с агрономически-ценными признаками для маркер-ассоциированной селекции с целью генотипирования и создания новых улучшенных гибридов сахарной свеклы.

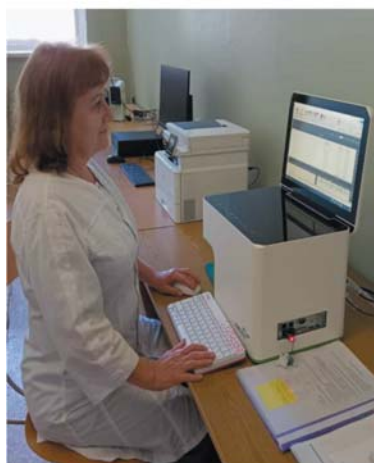
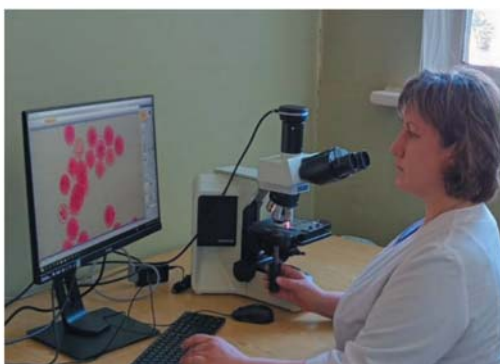
Развитием и внедрением в селекционную практику современных методов биотехнологии активно занимаются сотрудники лаборатории культуры тканей и молекулярной биологии Е.Н. Васильченко, Н.Н. Черкасова, О.В. Ткаченко, кандидат биологических наук Н.А. Карпеченко.

Экспериментальные исследования направлены на разработку новых приемов целенаправленного создания новых форм, гибридов сахарной свеклы и редких видов сахароносных растений в системах *in vitro*

для непосредственного использования в селекционном процессе. Осуществляется усовершенствование методов гаплоидии, эмбриокультуры, трансформации, клеточной селекции, технологии массового микроразмножения линий сахарной свеклы и стевии и оптимизация методики длительного сохранения растений-регенерантов в условиях культуры тканей.

Основные научные разработки

- методы цитоэмбриологического определения количества хромосом в клетках, активности роста пыльцевых трубок, особенностей развития зародыша и семязачатка;
- методика получения и оценки трансгенных растений сахарной свеклы с неспецифической устойчивостью к фитопатогенам;
- методика отбора форм сахарной свеклы, устойчивых к стрессовым факторам внешней среды, в условиях *in vitro*;
- методика отбора растений регенерантов сахарной свеклы на селективных средах, моделирующих повышенную кислотность;



Анализ плоидности при создании ДН-линий

- усовершенствованный метод индуцирования партеногамии, обеспечивающий направленную генетическую изменчивость при культивировании неоплодотворенных семязачатков *in vitro*;

- технология получения регенерантов сахарной свеклы с устойчивостью к эдафическим факторам. Линии сахарной свеклы с устойчивостью к засухе и кислотности среды;

- технология создания реституционных линий сахарной свеклы. Дигаплоидные линии;

- методика идентификации нового исходного материала в культуре *in vitro* по ДНК-маркерам;

- создан банк клонов актуального оригинального исходного материала сахарной свеклы в количестве более 80 генотипов (МС формы, закрепители стерильности О-типа, гаплоидные Н-линии, дигаплоидные ДН-линии, мутантные линии, трансгенные растения, межвидовые гибриды, клеточные линии с комплексной устойчивостью к абиотическим стрессам;

- методика создания новых форм сахарной свеклы с измененными морфологическими и молекулярно-генетическими признаками на основе Random – мутагенеза *in vitro*;

- методика получения соматоклональных вариантов стевии *in vitro*;

- методика получения соматоклонов яконона в условиях *in vitro*;

- создана коллекция 48 селекционно-ценных сортообразцов стевии в условиях *in vitro* с использованием идентификации по молекулярно-генетическим маркерам.

Перспективы инновационного развития

Данный процесс связан с внедрением научных разработок лаборатории культуры тканей в селекционный процесс. Основные направления планируемых исследований связаны с получением новых форм и линий, передаваемых в селекционные лаборатории:

- получение гомозиготных линий удвоенных гаплоидов (ДН-линии) с селекционно-ценными признаками;

- создание изогенных популяций с устойчивостью к неблагоприятным факторам окружающей среды;

- создание в условиях *in vitro* коллекции клонов линейного материала – компонентов перспективных гибридов сахарной свеклы;

- массовое микроразмножение стабилизированных линий-компонентов перспективных гибридов.

В последние годы приборная база отдела пополнилась самым современным высокоточным и высокопроизводительным научным оборудованием,



Микроклональное размножение

позволяющим проводить молекулярные и биотехнологические исследования на высоком уровне. Одно из главных достижений отдела генетики и биотехнологии за последние годы – создание творческого научного коллектива, представленного высококвалифицированными сотрудниками, которые решают сложнейшие задачи современной сельскохозяйственной науки. Передовые, принципиальной научной значимости фундаментальные исследования в институте удачно сочетаются с прикладными, что привело к решению ряда важных конкретных задач современной биотехнологии и молекулярной генетики сахарной свеклы.

Студенты Воронежского ГАУ и Воронежского государственного университета проходят научные и производственные практики в отделе, а научные сотрудники получают дополнительное образование на курсах повышения квалификации данных университетов.

Несомненно, что достижения отдела генетики и биотехнологии имеют важное государственное значение, так как открывают дорогу для успешного развития российской селекции. Важно, что нынешнее поколение ученых дорожит традициями, заложенными основателями института, ставя перед собой новые, амбициозные цели – ускоренное создание генетического улучшенного исходного материала сахарной свеклы на основе инновационных методов биотехнологии и молекулярной генетики.

100-летие ВНИИСС станет новой точкой отсчета для воплощения самых смелых планов и замыслов. Это только веха на пути непрерывного движения вперед, это лишь малая толика того, что выдающийся коллектив воплотит в реальность в будущем. Желаю всем коллегам дальнейшего процветания, благополучия, новых замечательных достижений в науке, новых творческих идей и их воплощений на благо отечественного свекловодства!