УДК 633.63:581.3
DOI: 10.17238/issn2071-2243.2017.3.57

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ГАПЛОИДНЫХ РЕГЕНЕРАНТОВ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Елена Николаевна Васильченко[1]
Татьяна Петровна Жужжалова[1]
Татьяна Григорьевна Ващенко[2]
Ольга Александровна Землянухина[1]
Никита Александрович Карпеченко[1]
Ольга Анатольевна Подвигина[1]

[1]Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара имени А.Л. Мазлумова
[2] Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I

Представлены результаты исследований по индуцированию гаплоидов у сахарной свеклы. Изучено влияние консистенции и состава питательных сред для культивирования изолированных семязачатков сахарной свеклы. Показано, что гормональный состав питательной среды по Гамборгу (B_5) влияет на направления морфогенетического развития изолированных семязачатков – через прямую регенерацию и через каллус. Использование среды жидкой консистенции с разным гормональным составом позволяет в среднем формировать гаплоидные регенеранты до 6,2% от введенных семязачатков. Наилучшая среда для дифференциации клеток и тканей семязачатков, включающая цитокинин БАП 1,0 мг/л, стимулирует развитие гаплоидов до 9,8%, что повышает их выход примерно в 2 раза. Наиболее ответственным этапом при культивировании гаплоидных регенерантов являются периоды стабилизации ростовых процессов у индуцированных и удвоенных гаплоидов. Стабилизирующий отбор (3-4 пассажа) нормально развитых растений-регенерантов обеспечивает выровненность материала по морфологическим признакам и высокую способность к формированию адвентивных побегов. Цитофотометрический анализ уровня плоидности позволяет идентифицировать на ранних этапах развития гаплоиды и удвоенные гаплоиды для формирования линий сахарной свеклы в условиях *in vitro*. Биохимическая оценка, характеризующая различия изоформ фермента 1- и 2-эстеразы, свидетельствует о разной регуляции активности генов в регенерантах сахарной свеклы, обусловленных, по-видимому, метилированием ДНК соответствующих участков генома. Молекулярно-генетические исследования с использованием секвенирования амплифицированных фрагментов ДНК митохондриального генома позволяют генотипировать гаплоидные регенеранты по стерильному и фертильному типам цитоплазмы. Проведенные биохимические и молекулярно-генетические исследования повышают качество отбора регенерантов и значительно сокращают процесс создания гомозиготных линий для селекции сахарной свеклы.
КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сахарная свекла, селекция, индуцирование гаплоидов, растения-регенеранты, питательные среды, влияние состава питательных сред.

PECULIARITIES OF *IN VITRO* REPRODUCTION OF SUGAR BEET HAPLOID REGENERANTS

Elena N. Vasilchenko[1]
Tatyana P. Zhuzhzhalova[1]
Tatyana G. Vashchenko[2]
Olga A. Zemlyanukhina[1]
Nikita A. Karpechenko[1]
Olga A. Podvigina[1]

[1]A. Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar
[2]Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great

The authors present the results of research on the induction of haploids of sugar beet. The authors have studied the effect of the consistency and composition of culture media for the cultivation of isolated sugar beet ovules. It is shown that the hormonal composition of culture medium by Gamborg (B_5) influences the directions of morphogenetic development of isolated ovules through direct regeneration and callus. The use of liquid media with various hormonal compositions allowed obtaining haploid regenerants from up to 6.2% of ovules. The best

medium for the differentiation of ovule cells and tissues contains 1.0 mg/L of BAP cytokinin and stimulates the development of up to 9.8% of haploids, which increases their yield by about 2 times. The most important stages in the cultivation of haploid regenerants are the periods of stabilization of growth processes in induced and doubled haploids. The stabilizing selection (3-4 passages) of normally developed regenerant plants ensures the uniformity of the material in terms of morphological features and a high ability to form adventitious shoots. A cytophotometric analysis of ploidy level allows identifying haploids and doubled haploids at early stages of their development for the purpose of *in vitro* reproduction of sugar beet lines. A biochemical evaluation characterizing the differences in the isoforms of 1- and 2-esterase enzyme indicates a different regulation of the activity of genes in sugar beet regenerants, which is apparently due to DNA methylation in the corresponding genomic regions. Molecular genetic studies using the sequencing of amplified DNA fragments of the mitochondrial genome allow genotyping the haploid regenerants by the sterile and fertile types of the cytoplasm. The performed biochemical and molecular genetic studies increase the quality of selection of regenerants and significantly reduce the process of creation of homozygous lines for sugar beet breeding.
KEY WORDS: sugar beet, selection, induction of haploids, regenerant plants, culture media, influence of composition of culture media.

Введение

Традиционные методы селекции сахарной свеклы являются слишком длительными и могут успешно дополняться современными приемами биотехнологии. Метод гаплоидии на основе культивирования неоплодотворенных семязачатков *in vitro* открывает широкие возможности для селекции. Благодаря генетической однородности линий удвоенных гаплоидов представляется возможным уже в течение 1-2 лет получать гомозиготный селекционный материал и тем самым сокращать период создания новых гомозиготных линий, отличающихся важнейшими признаками и являющихся перспективным исходным материалом для селекции сахарной свеклы [5, 6].

На процесс индукции гаплоидных растений влияет целый комплекс лимитирующих факторов: генотип донорского растения, состав питательной среды и условия культивирования. Вероятность получения гаплоидов у различных форм сахарной свеклы неодинакова [3] и в значительной степени зависит от генотипических особенностей донорского материала. Необходимыми условиями формирования гаплоидных регенерантов являются первичная оценка морфологических признаков, проведение цитологического и цитофотометрического анализов уровня плоидности, а также оптимизация этапов морфогенеза в период стабилизирующих отборов [7, 11, 14]. Важными являются также биохимические исследования полиморфизма изоферментных спектров гаплоидных регенерантов, культивируемых *in vitro*, и молекулярное маркировакние для выделения гомозиготных линий сахарной свеклы с ценными селекционными признаками.

В связи с этим выявление условий формирования гаплоидных регенерантов *in vitro* и оценка особенностей их морфогенеза, а также биохимических и молекулярно-генетических характеристик созданных линий удвоенных гаплоидов является актуальным. Поэтому создание линий сахарной свеклы удвоенных гаплоидов с ценными селекционными признаками имеет важное прикладное значение для селекции в целях ускорения формирования высокопродуктивных гибридов.

Материалы и методы

В ходе экспериментов использовали селекционные материалы лаборатории ЦМС и лаборатории исходного материала ВНИИСС.

Для стерилизации бутонов сахарной свеклы использовали 10% раствор хлорамина. Питательные среды готовили с использованием макро- и микросолей в количествах, соответствующих прописям Гамборга и Мурасиге-Скуга с добавлением ауксинов и цитокининов в различных сочетаниях [1].

Культивирование эксплантов проводили, соблюдая фотопериод 16 часов, освещенность 5 тыс. люкс при температуре 26°С.

Анализ плоидности донорского материала проводили методом проточной цитофотометрии на приборе фирмы Partec [5], изоферментный анализ – по методу Дэвиса в ПААГ [4, 9].

Совокупный белковый спектр растений сахарной свеклы выявляли с помощью ЭФ в 7,5% ПААГ по стандартной методике Лэммли [10].

Количественное содержание белка определяли по методу Брэдфорда [7], степень сходства митохондриального генома у гаплоидных регенерантов – с использованием реакции амплификации (ПЦР-анализ) и 2 пар праймеров (nad1 exonB - nad1 exonC, nad1 BF2 - nad1 BR3) [13].

Секвенирование полученных продуктов амплификации осуществляли по методу Ф. Сенгера [12].

Результаты электрофоретического фракционирования проводили с применением программного обеспечения Sequencing Analysis 6.

Результаты и их обсуждение

Для культивирования изолированных семязачатков сахарной свеклы в культуре тканей важно правильно подобрать состав питательной среды. Значительное влияние оказывает консистенция питательной среды, желирующие вещества (агар-агар, gelrit), комбинация регуляторов роста (ауксины и цитокинины) и стимулирующие вещества (активированный уголь – АУ).

Экспериментальные исследования показали, что использование среды жидкой консистенции, содержащей цитокинин БАП 1,0 мг/л, позволяет формировать гаплоидные регенеранты в среднем до 6,7% от введенных семязачатков (рис. 1).

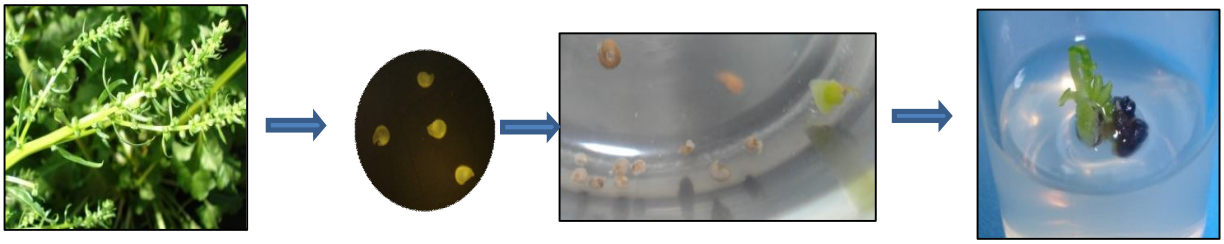


Рис. 1. Пролиферация новообразований ядер и клеток женского гаметофита на питательной среде жидкой консистенции

При добавлении на данном этапе в среду активированного угля (АУ) в концентрации 200 мг/л дифференциация клеток и тканей снижалась до 1,1%. Отмечалось прилипание частиц угля к семязачаткам и новообразованиям, что могло препятствовать их росту и развитию.

Сформированные структуры, извлеченные из жидких питательных сред и помещенные на модифицировнные среды с различным гормональным составом и разным составом желирующих веществ (агар, *gelrit*), индуцировали побеги (рис. 2).

Рис. 2. Структурные образования, полученные на средах с *gelrit*

Наибольшее количество регенерантов – 2,5-6,7% было получено на средах (№ 3, 6, 9, 12), где в качестве отвердителя использовали *gelrit* (табл. 1).

Таблица 1. Влияние состава питательной среды на выход растений-регенерантов

Питательная среда, номер	Регуляторы роста, мг/л	Содержание желирующего вещества, г/л	Получено растений-регенерантов	
			шт.	%
1	БАП 1,0 мг/л	Агар 7 г/л	55	1,8
2		Агар 7 г/л + активированный уголь 3 г/л	80	0
3		Gelrit 3 г/л	60	6,7
4	Гиббереллин 2,0 мг/л	Агар 7 г/л	85	1,2
5		Агар 7 г/л + активированный уголь 3 г/л	125	0,8
6		Gelrit 3 г/л	80	2,5
7	Гиббереллин 1,0 мг/л + БАП 0,2 мг/л + ИМК 0,1 мг/л	Агар 7 г/л	105	4,8
8		Агар 7 г/л + активированный уголь 3 г/л	115	1,7
9		Gelrit 3 г/л	125	5,6
10	Кинетин 0,5 мг/л + НУК 0,1 мг/л	Агар 7 г/л	50	0
11		Агар 7 г/л + активированный уголь 3 г/л	65	0
12		Gelrit 3 г/л	75	4,2

На агаризованных средах (№ 1, 4, 7, 10) этот показатель несколько снижался и составил 1,2-4,8%. При добавлении в питательную среду активированного угля (№ 2, 5, 8, 11) количество полученных растений-регенерантов снижалось до 0,8-1,7%.

На питательной среде жидкой консистенции активизировался процесс пролиферации ядер и клеток женского гаметофита, что оказывало воздействие на инициацию новообразований, а при переносе дифференцирующих структур на твердые питательные среды наблюдалась индукция гаплоидных регенерантов.

Наиболее ответственным этапом при дальнейшем культивировании являлся период стабилизации ростовых процессов у полученных растений-регенерантов. Проведение отбора включало браковку регенерантов с уродливым, сильно оводненным, плохо развивающимся листовым аппаратом и выделением наиболее жизнеспособных, активно растущих и хорошо размножающихся растений (рис. 3).

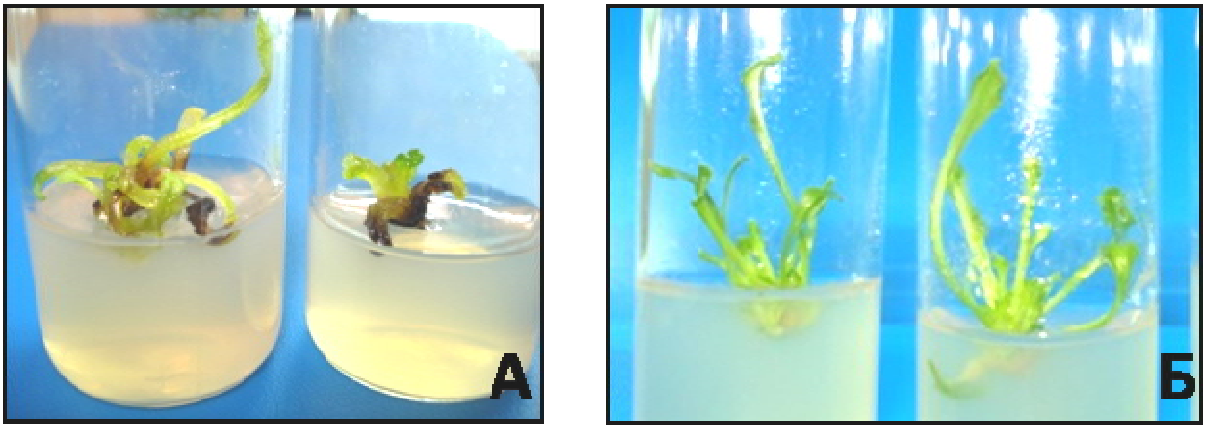


Рис. 3. Стабилизирующий отбор жизнеспособных регенерантов:
А – нежизнеспособные регенеранты; Б – жизнеспособные, активно растущие регенеранты

Важным этапом стал отбор гаплоидных регенерантов по уровню плоидности. Цитофотометрически это представлено классом клеток, соответствующих одинарному

набору хромосом. На гистограмме оценки плоидности гаплоидных регенерантов (рис. 4) на оси абсцисс (x-axis) представлены классы клеток разных уровней плоидности, где пик 1 соответствует гаплоидному уровню плоидности, пик 2 – диплоидному уровню и обозначает количество делящихся клеток. На оси ординат (y-axis) приведено количество измеренных клеток в каждом классе.

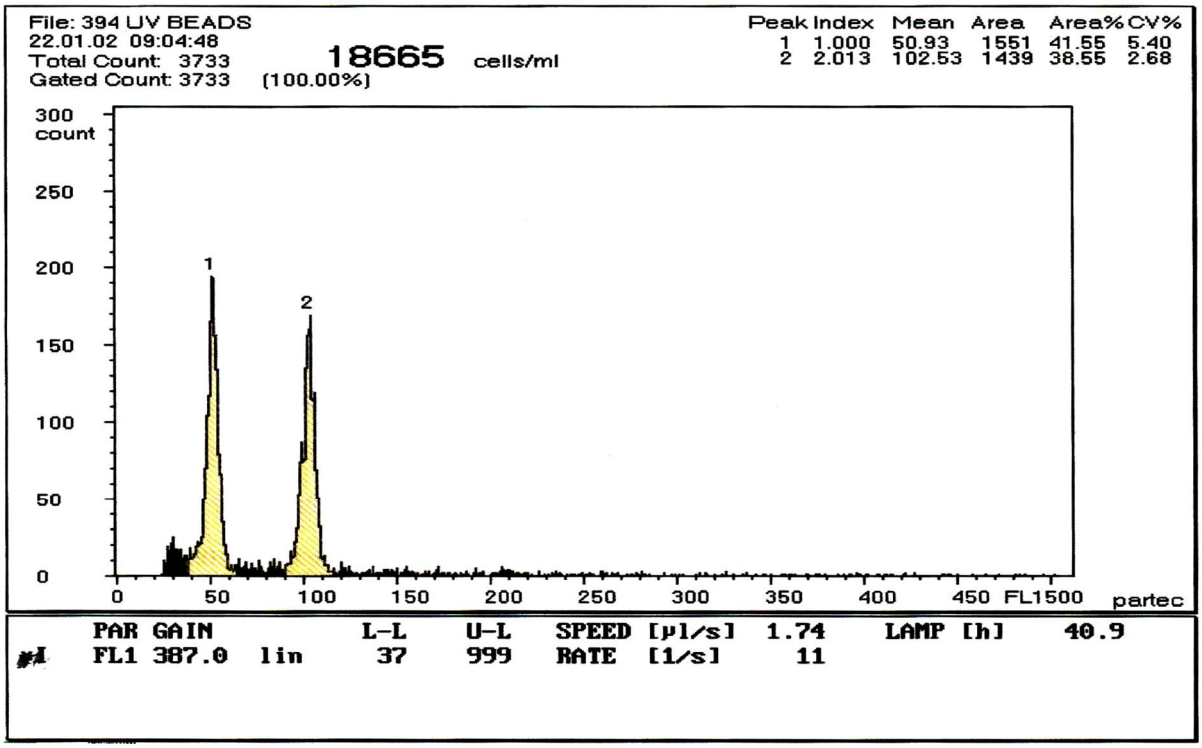


Рис. 4. Гистограмма оценки плоидности гаплоидных регенерантов

Дальнейшее культивирование отобранных гаплоидных регенерантов при использовании чередования ростовой (ГК, 6-БАП, Кн – по 0,2 мг/л) и безгормональной среды (3-4 пассажа) обеспечивает выровненность материала по морфологическим признакам и высокую способность к формированию адвентивных побегов.

Гаплоидные регенеранты, прошедшие стабилизирующий отбор, в отличие от диплоидов, имеют характерные морфологические признаки: розетку с узкими листовыми пластинками и более длинными черешками (рис. 5).

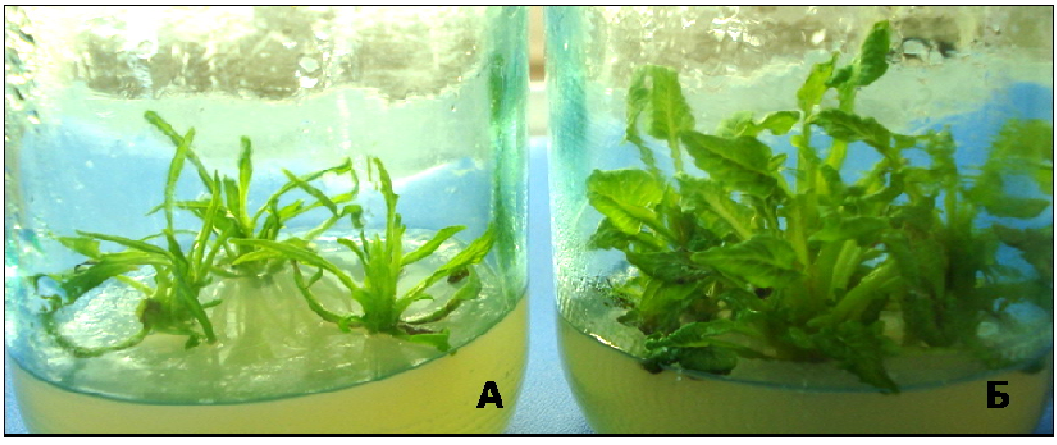


Рис. 5. Фенотипические различия растений регенерантов:
А – гаплоидные микроклоны; Б – диплоидные микроклоны

Для создания гомозиготных линий, способных участвовать в селекционном процессе, гаплоидные растения необходимо перевести на более высокий уровень плоидности путем колхицинирования. При воздействии колхицином (0,005%) выход диплоидных клеток составил 84,6%. Для блокирования деления гаплоидных клеток использовали кинетин (0,25 мг/л), который максимально (98,8%) стабилизировал деление диплоидных клеток сахарной свеклы. Культивирование генотипов на ростовой среде (ГК, 6-БАП, Кн – по 0,2 мг/л) приводило к стабилизации ростовых процессов, при этом коэффициент размножения составил 1/10. Добавление на данном этапе в среду активированного угля в концентрации 3 г/л негативно сказывалось на развитии растений-регенерантов, при этом коэффициент размножения составил 1/1, что, по-видимому, обусловлено адсорбцией гормональных веществ (рис. 6).

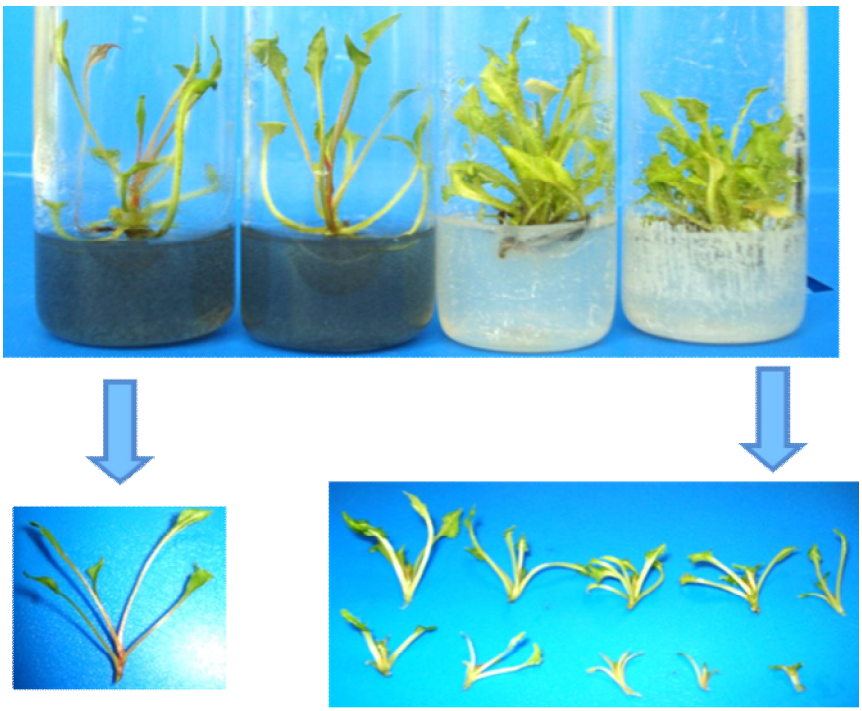


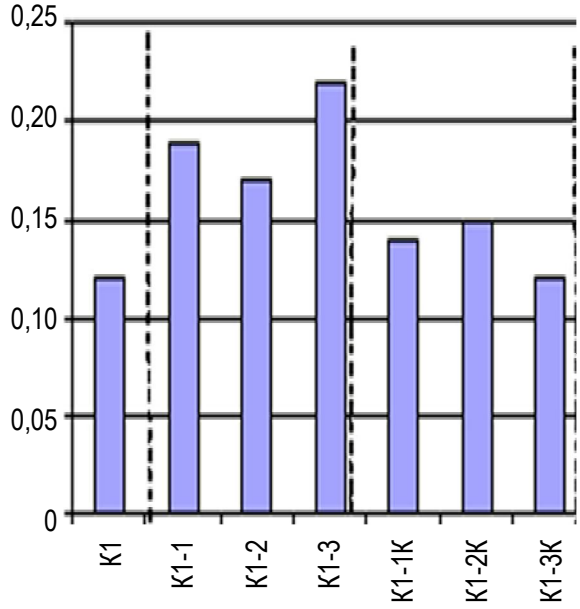
Рис. 6. Влияние состава питательных сред на коэффициент размножения растений-регенерантов: слева – с добавлением активированного угля; справа – без добавления

При добавлении в среду ауксинов ИМК (1 мг/л), НУК (1 мг/л) и АУ (3 г/л) частота корнеобразования варьировала в пределах 57,3-99,9% в зависимости от генотипа (табл. 2). Добавление на данном этапе в среду активированного угля (3 мг/л) позволило адсорбировать фенольные соединения, которые выделяются тканями в процессе культивирования, и стимулировать образование корней, что способствовало повышению частоты корнеобразования до 1,9-7,8%.

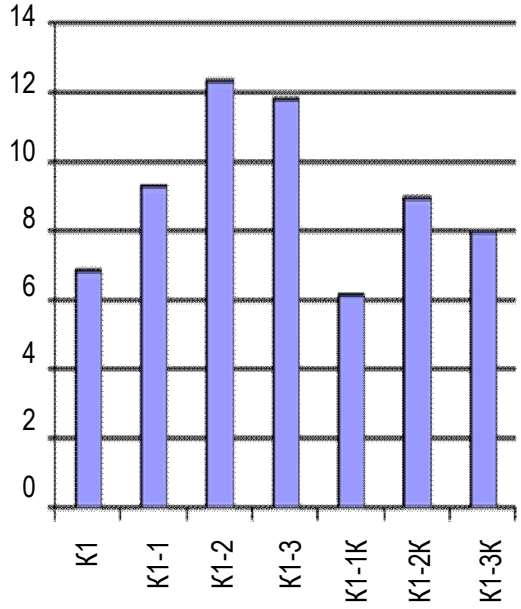
Таблица 2. Влияние гормонального состава на индукцию ризогенеза у растений-регенерантов с удвоенным числом хромосом

Генотип	Укоренение регенерантов, %			
	НУК 1 мг/л	НУК 1 мг/л + АУ 3 мг/л	ИМК 1 мг/л	ИМК 1 мг/л + АУ 3 мг/л
1039	89,7	97,5	99,0	99,9
1033	57,3	62,0	67,4	71,7

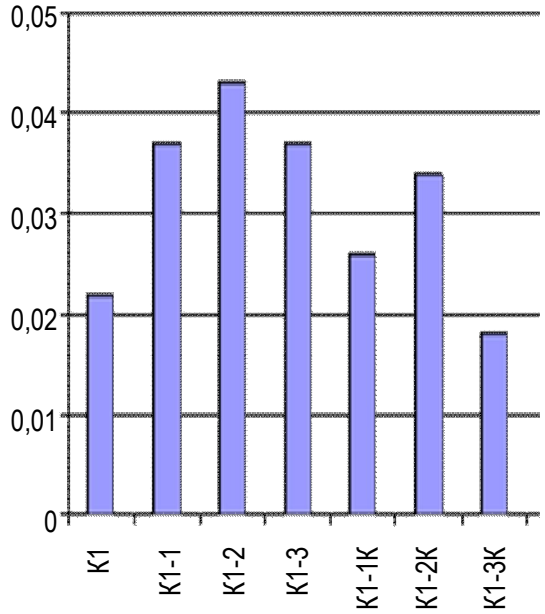
Для создания гомозиготных линий на основе гаплоидной партеногамии большое значение имеет отбор с использованием диагностических признаков, обеспечивающих ценные селекционные свойства. Биохимическая оценка выявила различия в уровне активности ферментов у опытных образцов (рис. 7).



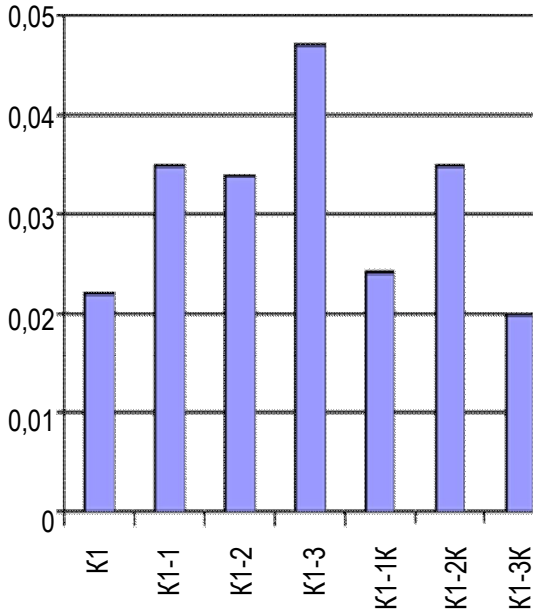
Содержание белка, мг/мл



Общая активность ПО, ФЕ/мл



Общая активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, ФЕ/мл



Общая активность изоцитрат-дегидрогеназы, ФЕ/мл

Рис. 7. Распределение активности ферментов: К1 – контроль; К1-1, К1-2, К1-3 – гаплоидные растения; К1-1К, К1-2К, К1-3К – растения с удвоенным числом хромосом

По сравнению с контрольными исходными формами гаплоидные растения характеризовались повышенным количеством белка – в 1,6 раза и усилением активности ферментов: пероксидазы – в 1,8 раза, глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы – в 1,4 раза, изоцитратдегидрогеназы – в 1,75 раза. После удвоения хромосом эти показатели возвращались к уровню контроля или незначительно превышали контроль. По-видимому, выявленные различия в активности ферментов отражают более глубокие изменения в регуляции активности генов.

Распределение изоформ фермента 1- и 2-эстеразы (α- и β-эстераза) показало наличие различий во всех группах образцов: контрольные (К), гаплоидные (Г1-Г5), колхицинированные (ДГ1-ДГ5) (табл. 3).

Таблица 3. Распределение изоформ 1- и 2-эстеразы в растениях-регенерантах сахарной свеклы

Образец / R_f	К	Г1	Г2	Г3	Г4	Г5	ДГ1	ДГ2	ДГ3	ДГ4	ДГ5
	1- и 2-эстераза										
0.18	+++	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
0.23	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
0.29	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.58	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.61	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: знак + – степень выраженности изоформы

Согласно современным представлениям можно предположить, что разная регуляция активности генов в растениях-регенерантах сахарной свеклы обусловлена метилированием ДНК соответствующих участков генома, связанных с функционированием белка [2].

Используя ДНК-маркеры, можно контролировать передачу генетической информации от донорских растений и проводить отбор на искомый селекционный признак, например признак цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС).

Молекулярные исследования последних лет свидетельствуют, что стерильность цитоплазмы данной культуры обусловлена изменением нуклеотидной последовательности в митохондриальном и хлоропластном геноме [8].

Анализ митохондриального генома культивируемых регенерантов, проведенный при помощи праймеров (nad1 BF2 - nad1 BR3), амплифицирующих фрагменты второго интрона первой субъединицы гена фермента NADH dehydrogenas, показал присутствие и выровненность локусов митохондриальной ДНК сахарной свеклы как контрольных, так и опытных образцов.

Молекулярно-генетические исследования амплифицированных фрагментов ДНК митохондриального генома, позволяющие проводить прямое определение первичной структуры с использованием секвенирования, дали возможность генотипировать регенеранты по стерильному и фертильному типам цитоплазмы (рис. 8), а также провести кластеризацию и выделить в отдельные кластеры фертильные (К1, К2, К1-1, К2-1, К2-2) и стерильные формы (К3, К3-1, К3-2) (рис. 9).

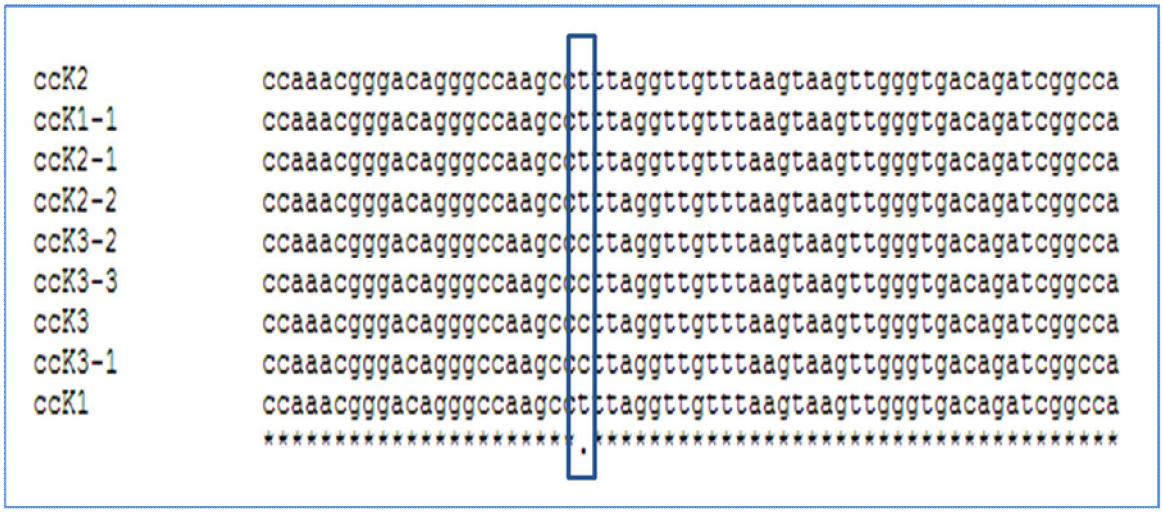


Рис. 8. Нуклеотидные последовательности амплифицированных фрагментов с использованием праймеров nad1 BF2 - nad1BR3: К1, К2, К1-1, К2-1, К2-2 – фертильные формы; К3, К3-1, К3-2 – стерильные формы

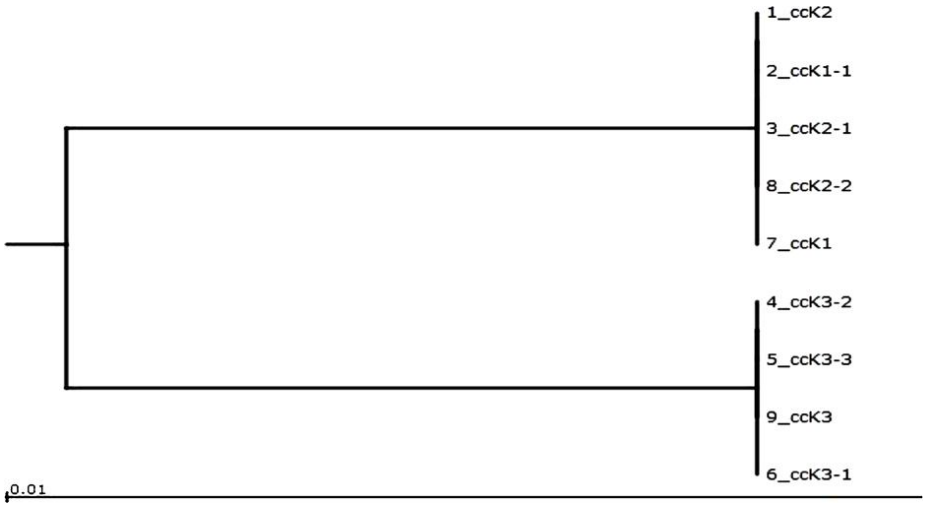


Рис. 9. Дендрограмма нуклеотидной последовательности амплифицированных фрагментов митохондриального генома сахарной свеклы с праймерами nad1 BF2 - nad1 BR3

Полученные результаты, свидетельствующие о том, что изменения структуры ДНК в митохондриальном геноме ассоциированы с цитоплазматической мужской стерильностью растений сахарной свеклы, позволяют проводить целенаправленный отбор регенерантов по генотипическим признакам на гаплоидном уровне.

Заключение

Проведенные биохимические и молекулярно-генетические исследования гаплоидных и растений-регенерантов с удвоенным набором хромосом доказывают возможность генотипирования их по стерильному и фертильному типам цитоплазмы на ранних этапах их развития в культуре *in vitro*, что позволяет сокращать процесс создания новых гомозиготных линий для селекции сахарной свеклы.

Библиографический список

1. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе : учеб. пособие / Р.Г. Бутенко. – Москва : ФБК-ПРЕСС, 1999. – 160 с.

2. Ванюшин Б.Ф. Метилирование ДНК – эпигенетическая регуляция роста и развитие растений / Б.Ф. Ванюшин // Биология развития: морфогенез репродуктивных структур и роль соматических, стволовых клеток в онтогенезе и эволюции : матер. Международной конференции, посвященной 50-летнему юбилею Лаборатории эмбриологии и репродуктивной биологии БИН РАН (13-16 декабря 2010 г). – Москва : Товарищество научных изданий КМК, 2010. – С. 41-43.

3. Гаплоидный партеногенез *in vitro* у сахарной свеклы (*Beta vulgaris*): факторы и диагностические признаки / Т.П. Жужжалова, О.А. Подвигина, В.В. Знаменская, Е.Н. Васильченко, Н.А. Карпеченко, О.А. Землянухина // Сельскохозяйственная биология. – 2016. – Т. 51, № 5. – С. 636-644.

4. Молекулярно-биохимические признаки гаплоидных и дигаплоидных растений-регенерантов сахарной свеклы / О.А. Землянухина, Е.Н. Васильченко, Н.А. Карпеченко, Т.П. Жужжалова, И.Ю. Карпеченко, В.Н. Калаев // Научные труды V Съезда физиологов СНГ, V Съезда биохимиков России, Конференции ADFLIM. – Сочи : ACTA NATURAE, 2016. – Т. 2. Спецвыпуск. – С. 59.

5. Подвигина О.А. Индуцирование гаплоидии из неоплодотворенных семяпочек сахарной свеклы в условиях *in vitro* / О.А. Подвигина // Энциклопедия рода Beta. Биология, генетика и селекция свеклы : сб. науч. тр. Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия. – Новосибирск : Сова, 2010. – С. 455-465.

6. Шепель Л.С. Морфогенез в культурі *in vitro* різних експлантів ярого ячменю (*Hordeum vulgare* L.) і одержання форм, стійких до борошнистої роси (Erysiphegraminis DCf. sp. hordei Marchal) : дис. ... канд. биол. наук : 03.00.20 / Л.С. Шепель. – Одесса, 2007. – 20 с.

7. Bradford, V. V. A rapid and sensitive method for the quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / V.V. Bradford // Anal. Biochem. – 1976. – Vol. 72. – No. 4. – P. 417-422.

8. Cheng D. The distribution of normal and male-sterile cytoplasmsin Chinese sugar-beet germplasm / D. Cheng, K. Kitazaki, D. Xu, T. Mikami, T. Kubo // Euphytica. – 2009. – Vol. 165. – P. 345-354.

9. Davis B.J. Disc Electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins / B.J. Davis // Ann. N.Y. Acad. Sci., 1964. – Vol. 121. – P. 404-427.

10. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T 4 / U.K. Laemmli // Nature. – 1970. – Vol. 227. – No. 5259. – P. 680-685.

11. Lux H. Production of haploid sugar beet (*Beta vulgaris* L.) by culturing unpollinated ovules / H. Lux, L. Hermann // Plant Breed. – 1990. – Vol. 3. – No. 104. – P. 177-183.

12. Sanger F. Nucleotide sequence of bacteriophage phi X174 DNA / F. Sanger, G.M. Air, B.G. Barrell, et al // Nature. – 1977. – Vol. 265. – No. 5596. – P. 687-695.

13. Soranzo N. Patterns of variation at a mitochondrial sequence-tagged-site locus provides new insights into the postglacial history of European Pinuss ylvestris populations / N. Soranzo, R. Alia, J. Provan, et al. // Molecular Ecology. – Vol. 9 (9). – P. 1205-1211.

14. Speckmann C.J. The induction of haploids of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) using anther and free pollen culture or ovule and ovary culture / C.J. Speckmann // Gen. Manipulat Plant Breed. – Berlin - New York, 1986. – P. 351-353.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Принадлежность к организации

Елена Николаевна Васильченко – старший научный сотрудник отдела генетики и биотехнологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара имени А.Л. Мазлумова», Российская Федерация, Воронежская область, Рамонский район, пос. ВНИИСС, E-mail: biotechnologiya@mail.ru.

Татьяна Петровна Жужжалова – доктор биологических наук, профессор, зав. отделом генетики и биотехнологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара имени А.Л. Мазлумова», Российская Федерация, Воронежская область, Рамонский район, пос. ВНИИСС, E-mail: biotechnologiya@mail.ru.

Татьяна Григорьевна Ващенко – доктор сельскохозяйственных наук, профессор кафедры селекции и семеноводства ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I», Российская Федерация, г. Воронеж, тел. 8(473) 253-76-93 (доб. 1269), E-mail: selection@agronomy.vsau.ru.

Ольга Александровна Землянухина – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела генетики и биотехнологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара имени А.Л. Мазлумова», Российская Федерация, Воронежская область, Рамонский район, пос. ВНИИСС, E-mail: biotechnologiya@mail.ru.

Никита Александрович Карпеченко – кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела генетики и биотехнологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара имени А.Л. Мазлумова», Российская Федерация, Воронежская область, Рамонский район, пос. ВНИИСС, E-mail: biotechnologiya@mail.ru.

Ольга Анатольевна Подвигина – доктор сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник отдела генетики и биотехнологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара имени А.Л. Мазлумова», Российская Федерация, Воронежская область, Рамонский район, пос. ВНИИСС, E-mail: biotechnologiya@mail.ru.

Дата поступления в редакцию 16.09.2017 Дата принятия к печати 26.09.2017

AUTHOR CREDENTIALS
Affiliations

Elena N. Vasilchenko – Senior Research Scientist, the Dept. of Biotechnology and Genetics, A. Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar, Russian Federation, Voronezh Oblast, Ramonsky District, VNIISS settlement, E-mail: biotechnologiya@mail.ru.

Tatyana P. Zhuzhzhalova – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Dept. of Biotechnology and Genetics, A. Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar, Russian Federation, Voronezh Oblast, Ramonsky District, VNIISS settlement, E-mail: biotechnologiya@mail.ru.

Tatiana G. Vashchenko – Doctor of Agricultural Sciences, Professor, the Dept. of Plant and Seed Selection Breeding, Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, Russian Federation, Voronezh, tel. 8(473) 253-71-81, E-mail: selection@agronomy.vsau.ru.

Olga A. Zemlyanukhina – Candidate of Biological Sciences, Senior Research Scientist, the Dept. of Biotechnology and Genetics, A. Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar, Russian Federation, Voronezh Oblast, Ramonsky District, VNIISS settlement, E-mail: biotechnologiya@mail.ru.

Nikita A. Karpechenko – Candidate of Biological Sciences, Research Scientist, the Dept. of Biotechnology and Genetics, A. Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar, Russian Federation, Voronezh Oblast, Ramonsky District, VNIISS settlement, E-mail: biotechnologiya@mail.ru.

Olga A. Podvigina – Doctor of Agricultural Sciences, Leading Research Scientist, the Dept. of Biotechnology and Genetics, A. Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar, Russian Federation, Voronezh Oblast, Ramonsky District, VNIISS settlement, E-mail: biotechnologiya@mail.ru.

Date of receipt 16.09.2017 Date of admittance 26.09.2017