

УДК 633.322:631.522

DOI 10.33814/AFP-2222-5366-2026-2-33-40

СПОСОБЫ ФЕНОТИПИЧЕСКОГО МАРКИРОВАНИЯ СОРТОВ КЛЕВЕРА ПОЛЗУЧЕГО*

А. А. Иванова, кандидат сельскохозяйственных наук

ФНЦ «ВИК им. В. Р. Вильямса»

141055, Россия, Московская область, г. Лобня, ул. Научный городок, корп. 1

alinaivanova@vniikormov.ru

METHODS OF PHENOTYPIC LABELING OF WHITE CLOVER VARIETIES

A.A. Ivanova, Candidate of Agricultural Sciences

Federal Williams Research Center of Forage Production and Agroecology

141055, Russia, Moscow region, Lobnya, Nauchnyi gorodok str., k. 1

alinaivanova@vniikormov.ru

Для селекционных достижений большое значение имеет метод идентификации сортов, на основании которого дается заключение об их новизне, отличимости и правовой защите. В исследовании представлено применение фенотипических маркеров на культуре клевера ползучего. Поиск генотипов, имеющих отличимые фенотипические признаки, ведется на всех этапах селекционного процесса. Имеется рабочая коллекция фенотипических маркеров по рисунку листовой пластинки, антоциановому окрасу листьев и многолисточковости. Из выделенных единичных растений или группы растений посредством ручного опыления и многократного отбора создаются изогенные популяции с определенным маркерным признаком. Созданы изогенные популяции с маркерными признаками: «заполненная белая метка листовой пластинки», «удлиненная метка листовой пластинки», «отсутствие белой метки на листовой пластинке» и «розовый окрас соцветий». Фенотипически маркированные образцы могут сами стать сортами либо использоваться для маркирования перспективного селекционного материала. В опыте представлена возможность фенотипического маркирования перспективного селекционного материала клевера ползучего по маркерному признаку «розовый окрас соцветий». Показано, что в поколениях F_1 и F_2 передается признак окраса соцветий.

Ключевые слова: клевер ползучий, маркирование, фенотип, селекция, отбор.

For breeding achievements, the method of identifying varieties is of great importance, on the basis of which an opinion is given on their novelty, distinctiveness and legal protection. The study presents the application of phenotypic markers on the white clover culture. The search for genotypes having distinc-

*Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России для Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В. Р. Вильямса» «Вывести новые сорта сельскохозяйственных культур (кормовых, аридных, зерновых и зернобобовых, плодовых и масличных), адаптированных к различным почвенно-климатическим условиям Российской Федерации и отличающихся высокой устойчивостью к основным заболеваниям и к местным неблагоприятным условиям среды, на основе использования существующих и вновь создаваемых методов получения исходного материала с заданными свойствами» (FGGW-2025-0002).

tive phenotypic features is carried out at all stages of the breeding process. There is a working collection of phenotypic markers on the pattern of the leaf plate, anthocyanic color of the leaves and multi-leaf. Isogenic populations with a specific marker trait are created from selected individual plants or groups of plants through manual pollination and repeated selection. Isogenic populations with marker traits have been created: "filled white leaf plate mark", "elongated leaf plate mark", "absence of a white mark on the leaf plate", and "pink inflorescence color". Phenotypically marked samples can become varieties themselves or be used for marking promising breeding material. The experiment demonstrates the possibility of phenotypically marking promising breeding material of white clover using the marker trait "pink inflorescence color". It has been shown that the inflorescence color trait is transmitted in the F₁ and F₂ generations.

Keywords: white clover, marking, phenotype, selection, breeding.

Для селекционных достижений большое значение имеет метод идентификации сортов и гибридов растений, на основании которых дается заключение об их новизне и правовой защите. Отличимость сорта можно достичь фенотипическим маркированием.

Маркерные признаки делятся на две категории:

- молекулярные, которые различают на белковые и ДНК-маркеры;
- фенотипические, связанные с морфологическими признаками (окраска соцветий, наличие пятна на листе, антоциановый окрас и др.)

Для маркирования подходят признаки с ярко выраженным фенотипическим эффектом. Признак должен иметь простой тип наследования, контролироваться не более чем двумя–тремя генами, которые легко выделяются в расщепляющихся популяциях независимо от условий внешней среды. Чаще всего это фенотипические признаки, связанные с окраской венчика, листьев, стеблей, а также различные морфологические отклонения. Количество «удобных» фенотипических маркеров внутри вида весьма ограничено [1].

Для маркирования вновь созданных и уже существующих сортов клевера необходимо правильно выбрать признак–

маркер. Предпосылками для выделения таких признаков являются несколько основных требований: рецессивный характер наследования; малое число генов, контролирующих этот признак; положительный вклад в общую доминанту признаков, на которую ведется селекция [2].

Генетика белого клевера осложняется аллотетраплоидией, высокой степенью гетерозиготности и перекрестным опылением. Поэтому гомозиготные линии недоступны для изучения наследования. Большинство морфологических маркеров органоспецифичны, и у растений с многолетним циклом развития они могут проявляться лишь на второй или последующие годы, что весьма неудобно. Кроме того, на многие изучаемые морфологические признаки сильно влияет окружающая среда [3], в том числе на регуляцию биосинтеза антоцианов с помощью гена MYB [4].

Наиболее распространенным маркером является белый треугольный рисунок на верхнем эпидермисе листьев. Этот мультиаллельный признак очень изменчив [5; 6; 7]. Многолисточковость клевера ползучего контролируется рецессивным геном (или генами) и на его проявление сильно влияет окружающая среда. Считается, что род *Trifolium* произошел от многораздельных предков и

количество листочков уменьшалось в ходе эволюции. У бобовых гены, подавляющие формирование большего количества листочков, приводили к уменьшению их количества [7; 8].

Антоциановая окраска листьев у рода *Trifolium* регулируется семейством генов R2R3-MYB [9]. *Trifolium repens* имеет несколько отчетливых антоциановых рисунков листьев, которые связаны с локусами пигментации R и V. Локус R связан с такими признаками как: «красный лист» (RL), «красная средняя жилка» (RM), «красная крапинка» (RF) и «диффузный красный лист» (RLD) [3; 8; 10;].

Цель исследований — создать фенотипически маркированный селекционный материал клевера ползучего.

Материалы и методы. Основным селекционным методом работы в исследовании являлся отбор. Образцы получены из Центра коллективного пользования «Биологические коллекции кормовых растений» ФНЦ «ВИК им.

В. Р. Вильямса».

Оценка проводилась в условиях селекционно-тепличного комплекса (СТК) и в научно-исследовательских полях. С целью ускорения селекционного процесса и получения развитых растений клевера ползучего в первый год жизни образцы выращивались через рассаду. Растения высаживались в феврале–марте в сосуды объемом 0,2 л в СТК. Рассада проходила яровизацию на открытом воздухе в апреле. Далее в зависимости от опыта растения высаживались в сосуды объемом 3 л (по одному растению), в грунтовую теплицу и в поле. В полевых условиях расстояние между растениями составило 50 × 50 см. Все учеты и наблюдения проведены согласно методическим указаниям [11; 12].

Результаты исследований и их обсуждение. Схема селекционного процесса, используемая при маркировании селекционного материала, представлена на рисунке 1.

Поиск фенотипических маркеров
Создание изогенной популяции с маркерным признаком
Маркирование перспективного селекционного материала
F ₁
F ₂ отбор
Насыщающее скрещивание F ₃ и F ₄
Испытание перспективного селекционного материала

Рис. 1. Схема селекционного процесса

Генотипы, имеющие фенотипические признаки, пригодные для маркирования сортов, в селекционном процессе подбираются в результате оценки коллекционного материала дикорастущих форм и

культурных сортов, расщепления гибридов и осмотре производственных посевов.

Из выделенных единичных растений или группы растений посредством руч-

ного опыления и многократного отбора создаются изогенные популяции с определенным маркерным признаком. Для маркирования может быть использован как доминантный (наличие треугольного пятна листьев, красная пятнистость листьев), так и рецессивный (многолисточковость, отсутствие треугольного пятна листьев, красная жилка листьев, окрас соцветий) признак. Фенотипически маркированные образцы могут сами стать сортами либо использоваться для маркирования перспективного селекционного материала.

Одним из способов фенотипического маркирования является создание попу-

ляции клевера ползучего с рисунком белой метки на листовой пластинке. С этой целью ведется поиск и пополняется рабочая коллекция фенотипических маркеров по рисунку листовой пластинки. Созданы изогенные популяции многократным отбором из образцов № 127 (дикорастущая форма, Амурская область) и № к-40561 (дикорастущая форма, Краснодарский край). Белая метка листовой пластинки образца № 127 полностью окрашена, лист яйцевидной формы, с красной пятнистостью. У образца № к-40561 треугольный рисунок подчеркнутый, вытянутый, форма листа удлинненная (рис. 2).

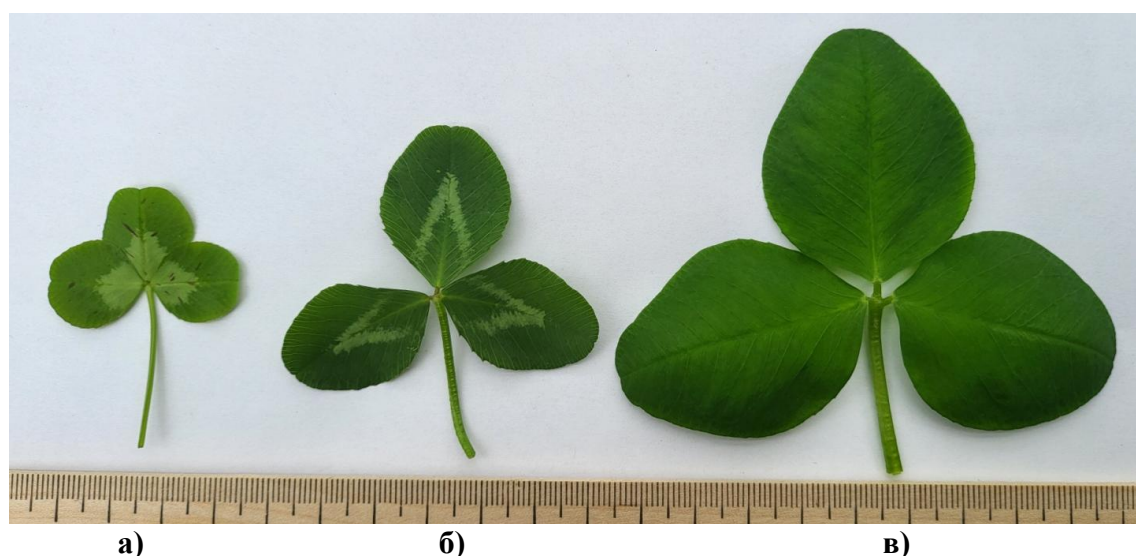


Рис. 2. Рисунок листовой пластинки а) № 127, б) № к-40561, в) № 302

Создана изогенная популяция клевера ползучего с отсутствием белой метки листовой пластинки (рецессивный признак). Образец является октоплоидом ($2n = 64$). Удвоенное число хромосом привело к увеличению размеров клетки, а следовательно, и к увеличению размеров всех органов. Растения характеризуются крупными листьями (4,5 см) и головками (3,0 см), толстыми стеблями

(0,4 мм), высокими цветоносами (32,0 см). Октоплоидный образец № 302 имеет двойное фенотипическое маркирование: отсутствие треугольного пятна и форма пыльцевых зерен. Пыльца октоплоидных образцов ($2n = 64$) имеет неправильную форму (треугольную, многоугольную), тетраплоидные образцы ($2n = 32$) обладают правильной вытянутой формой (рис. 3).

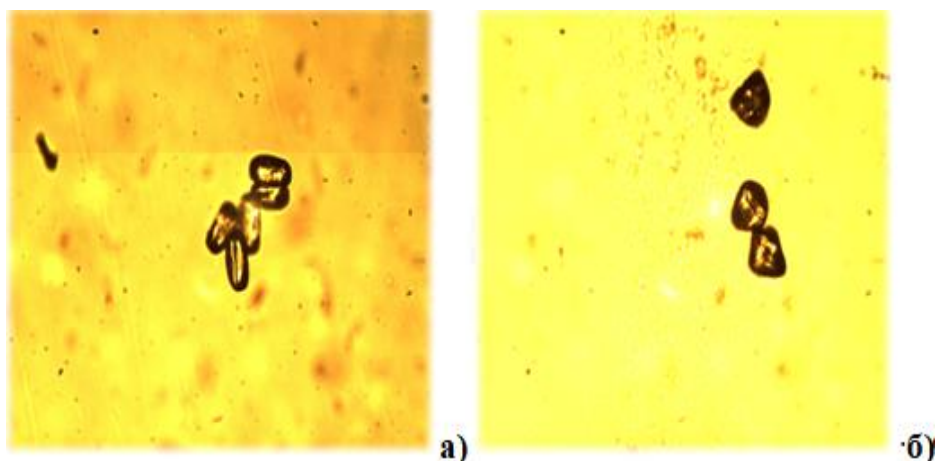


Рис. 3. Форма пыльцевых зерен: а) тетраплоид ($2n = 32$), б) октоплоид ($2n = 64$)

В работе по поиску фенотипических маркеров клевера ползучего найдены образцы, имеющие рецессивные при-

знаки: многолисточковость, антоциановый окрас вегетативной массы (рис. 4) и др.



Рис. 4. Растения клевера ползучего с антоциановым окрасом вегетативной массы

Одним из фенотипических маркеров клевера ползучего является форма куста.

Для маркирования по данному признаку возможно использование «кустовых» форм клевера ползучего. Стебли таких форм скученные, многочисленные, не стелющиеся и не укореняющиеся в узлах.

«Кустовые» формы встречаются, как

правило, на краях ареала — альпийский пояс Киликийского Тавра и Каппадокии (Турция), Апеннин, Греции, Кыргызстана [13].

В результате исследований последних лет (с 2020 по 2025 гг.) создан образец клевера ползучего по маркерному признаку «розовый окрас соцветий» (рис. 5).



Рис. 5. Соцветие клевера ползучего, имеющее маркерный признак «розовый окрас соцветий»

Из гибрида, с исходными родительскими формами Атолай (Латвия) × Печорский (дикорастущая форма, Россия, Республика Коми), отобрано два расте-

ния, выделившихся по окрасу соцветий. Из этих растений получено поколение F_1 – F_4 . Расщепление по окрасу соцветий представлено в таблице 1.

1. Расщепление образца клевера ползучего «Окрашенные соцветия» по окрасу соцветий

Цвет соцветий	Год исследований							
	2022		2023		2024		2025	
	Поклоение							
	F ₁		F ₂		F ₃		F ₄	
	количество растений	%	количество растений	%	количество растений	%	количество растений	%
Белый	95	95,0	200	32,6	21	3,9	4	0,4
Розовый	3	3,0	364	59,4	471	87,9	906	94,4
Ярко- розовый	2	2,0	49	8,0	44	8,2	50	5,2
Всего растений	100	100	613	100	536	100	960	100

Маркирование перспективного селекционного материала F_4 (2×3) с применением образца «Окрашенные соцветия» проведено в 2023–2025 гг.

В поколениях F_1 и F_2 маркерный признак «розовый окрас соцветий» передался по наследству.

В 2024 г. оценивались 130 гибридных растений F_1 ($(2 \times 3) \times \text{ОС}$). Расщепление по окрасу соцветий: с белым окрасом за-

цвело 13 растений (11 %), с бледно-розовым — 72 растения (61 %) и с ярко-розовым — 34 растения (29 %). С лучших растений, имеющих ярко-розовый окрас соцветий, получены семена при ручном опылении головок. В 2025 г. оценивались 42 растения гибридов F_2 . Зацвело 22 растения, из которых 2 растения имели белый окрас и 20 растений розовый окрас соцветий. В поколениях

F₃ и F₄ будут проведены насыщающие скрещивания.

Заключение. В статье приведены способы фенотипического маркирования сортов клевера ползучего.

В результате исследований получены изогенные популяции с маркерными признаками «заполненная белая метка

листовой пластинки», «удлиненная метка листовой пластинки», «отсутствие белой метки на листовой пластинке» и «розовый окрас соцветий».

Проведено фенотипическое маркирование перспективного образца клевера ползучего по маркерному признаку «розовый окрас соцветий».

Литература:

1. Taylor N. L. Registration of gene marker germplasm for red clover (Reg. CP1 for CP) // Crop Science. – 1982. – Vol. 22. – № 6. – P. 1269.
2. Матвеева О. С. Изучение сортового разнообразия на отличимость, однородность и стабильность признаков и создание генетически маркированного селекционного материала клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) : дис. канд. с.-х. наук. – Москва, 2004. – 163 с. – EDN NMQTJP.
3. Inheritance and frequencies of leaf markings in white clover / H. L. Carnahan, H. D. Hill, A. A. Hanson, K. G. Brown // Journal of Heredity. – 1955. – Vol. 46. – № 3. – Pp. 109–114. – EDN IRQGKH.
4. MYB-mediated regulation of anthocyanin biosynthesis / H. Yan, X. Pei, H. Zhang, et al. // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22. – № 6. – Pp. 3103. – EDN WOANSO. – DOI 10.3390/ijms22063103.
5. Brewbaker J. L. V-leaf markings of white clover // Journal of Heredity. – 1955. – Vol. 46. – № 3. – Pp. 115–123. – EDN HVBQEK.
6. Genetic nomenclature in clovers and special purpose legumes: I. Red and white clover / K. H. Quesenberry, R. R. Smith, N. L. Taylor, et al. // Crop Science. – 1991 – Vol. 31. – № 4. – Pp. 861–867. – DOI 10.2135/cropsci1991.0011183X003100040003x.
7. Leaf trait coloration in white clover and molecular mapping of the red midrib and leaflet number traits / R. M. Tashiro, Y. Han, M. J. Monteros, et al. // Crop Science. – 2010. – Vol. 50. – № 4. – Pp. 1260–1268. – DOI 10.2135/cropsci2009.08.0457.
8. Zohary M., Heller D. The genus *Trifolium*. – Jerusalem : Israel Academy of Sciences and Humanities, 1984. Pp. 606.
9. Anthocyanin leaf markings are regulated by a family of R2R3-MYB genes in the genus *Trifolium* / N. W. Albert, A. G. Griffiths, G. R. Cousins, et al. // New Phytologist. – 2015. – Vol. 205. – № 2. – Pp. 882–893. – DOI 10.1111/nph.13100.
10. Corkill L. Leaf markings in white clover // Journal of Heredity. – 1971. – Vol. 62. – № 5. – Pp. 307–310. – EDN IRSVHX.
11. Методические указания по селекции и первичному семеноводству клевера / Под ред. З. Ш. Шамсутдинова, А. С. Новоселовой, С. А. Бекузаровой. – М. : Типография Россельхозакадемии, 2002. – 72 с. – EDN RSNVNH.
12. Малышев Л. Л., Дзюбенко Е. А., Малышева Н. Ю. Методические указания по работе с коллекцией кормовых культур. – СПб. : ВИР, 2024. – 52 с. – EDN KGACPO. – DOI 10.30901/978-5-907780-10-1.
13. Мухина Н. А., Станкевич А. К. Культурная флора, многолетние бобовые травы (клевер, люцерна). – М. : Колос, 1993. – 336 с.

References:

1. Taylor N.L. Registration of gene marker germplasm for red clover (Reg. CP1 for CP). *Crop Science*. 1982. Vol. 22. No. 6. Pp. 1269.
2. Matveeva O.S. *Izucheniye sortovogo raznoobraziya na otlichimost', odnorodnost' i stabil'nost' priznakov i sozdanie geneticheskii markirovannogo selektsionnogo materiala klevera lugovogo (Trifolium pratense L.)* [Study of varietal diversity for distinctiveness, uniformity, and stability of traits and creation of genetically marked breeding material for red clover (*Trifolium pratense* L.)]. *Dissertatsiya na soiskanie uchenoi stepeni kandidata sel'skokhozyaistvennykh nauk* [Dissertation for the degree of Candidate of Agricultural Sciences]. Moscow. 2004. 163 p. EDN NMQTJP.
3. Carnahan H.L., Hill H.D., Hanson A.A., Brown K.G. Inheritance and frequencies of leaf markings in white clover. *Journal of Heredity*. 1955. Vol. 46. No. 3. Pp. 109-114.
4. Yan H., Pei X., Zhang H., et al. MYB-mediated regulation of anthocyanin biosynthesis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22. No 6. P. 3103. DOI 10.3390/ijms22063103.
5. Brewbaker J.L. V-leaf markings of white clover. *Journal of Heredity*. 1955. Vol. 46. No. 3. Pp. 115-123.
6. Quesenberry K.H., Smith R.R., Taylor N.L., et al. Genetic nomenclature in clovers and special purpose legumes: I. Red and white clover. *Crop Science*. 1991. Vol. 31. No. 4. Pp. 861-867. DOI 10.2135/cropsci1991.0011183X003100040003x.
7. Tashiro R.M., Han Y., Monteros M.J., et al. Leaf trait coloration in white clover and molecular mapping of the red midrib and leaflet number traits. *Crop Science*. 2010. Vol. 50. No. 4. Pp. 1260-1268. DOI 10.2135/cropsci2009.08.0457.
8. Zohary M., Heller D. The genus *Trifolium*. Jerusalem. Israel Academy of Sciences and Humanities. 1984. 606 p.
9. Albert N.W., Griffiths A.G., Cousins G.R., et al. Anthocyanin leaf markings are regulated by a family of R2R3-MYB genes in the genus *Trifolium*. *New Phytologist*. 2015. Vol. 205. No. 2. Pp. 882-893. DOI 10.1111/nph.13100.
10. Corkill L. Leaf markings in white clover. *Journal of Heredity*. 1971. Vol. 62. No. 5. Pp. 307-310.
11. *Metodicheskie ukazaniya po selektsii i pervichnomu semenovodstvu klevera* [Guidelines for Clover Breeding and Primary Seed Production] ed. by Z.Sh. Shamsutdinov, A.S. Novoselova, S.A. Bekuzarova. Moscow. *Tipografiya Rossel'khozakademii* Publ. 2002. 72 p.
12. Malysheva L.L., Dzyubenko E.A., Malysheva N.Yu. *Metodicheskie ukazaniya po rabote s kolleksiei kormovykh kul'tur* [Guidelines for working with a collection of fodder crops]. Saint-Petersburg. *VIR* Publ. 2024. 52 p. DOI 10.30901/978-5-907780-10-1.
13. Mukhina N.A., Stankevich A.K. *Kul'turnaya flora, mnogoletnie bobovye travy (klever, lyadvenets)* [Cultivated flora, perennial leguminous grasses (clover, alfalfa)]. Moscow. *Kolos* Publ. 1993. 336 p.