

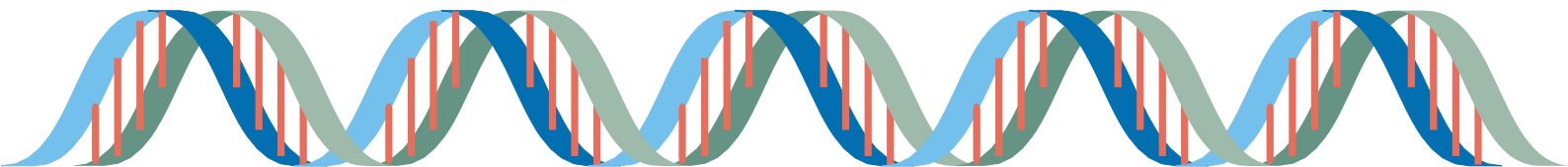
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт  
сельскохозяйственной биотехнологии»



XXIV конференция молодых ученых

«Биотехнология в растениеводстве,  
животноводстве и сельскохозяйственной  
микробиологии»

**СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ КОНФЕРЕНЦИИ**



В рамках соглашения о создании и развитии центра геномных исследований  
мирового уровня «Курчатовский геномный центр»

23 – 27 сентября 2024 г.  
Москва

## ГЕНЕРАЛЬНЫЕ СПОНСОРЫ



## ОФИЦИАЛЬНЫЕ СПОНСОРЫ



## ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ ПАРТНЁР

### ООО «НАУЧНЫЙ СЕРВИС»

Конференция проводится на основании Соглашения от «31» октября 2019 г. № 075-15-2019-1667 о предоставлении из федерального бюджета грантов в форме субсидий в соответствии с пунктом 4 статьи 78.1 Бюджетного кодекса Российской Федерации на осуществление государственной поддержки создания и развития центра геномных исследований мирового уровня «Курчатовский геномный центр» в рамках реализации федерального проекта «Развитие научной и научно-производственной кооперации» национального проекта «Наука».

**ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ**

**XXIV КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ**

**«БИОТЕХНОЛОГИЯ В РАСТЕНИЕВОДСТВЕ, ЖИВОТНОВОДСТВЕ И  
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ»**

23 – 27 сентября 2024 г.

Москва – 2024

**УДК 663.18(063);606;573.6;57.088**

**ББК 30.16**

**Авт.знак Д22**

**ISBN 978-5-9216-0495-7**

**«Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии»: 24-я Всероссийская конференция молодых учёных (Москва, 23 – 27 сентября 2024 г., ФГБНУ ВНИИСБ), сборник тезисов докладов. – М.: ФГБНУ ВНИИСБ, 2024. – 148 с.**

24-я Всероссийская молодежная научная конференция «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии» проводится ежегодно Всероссийским научно-исследовательским институтом сельскохозяйственной биотехнологии. В сборник включены тезисы докладов научных работ аспирантов и молодых ученых научно-исследовательских институтов и ВУЗов. Конференция проводится на основании Соглашения от «31» октября 2019 г. № 075-15-2019-1667 о предоставлении из федерального бюджета грантов в форме субсидий в соответствии с пунктом 4 статьи 78.1 Бюджетного кодекса Российской Федерации на осуществление государственной поддержки создания и развития центра геномных исследований мирового уровня «Курчатовский геномный центр» в рамках реализации федерального проекта «Развитие научной и научно-производственной кооперации» национального проекта «Наука». Сборник тезисов представляет интерес для специалистов в области биотехнологии, молекулярной биологии, геномной инженерии, клеточной биологии.



**© ФГБНУ ВНИИСБ, 2024 г.**

## Оглавление

<b>СЕКЦИЯ «ПРИКЛАДНЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ»</b>	
ИЗУЧЕНИЕ НЕТРАНСКРИБИРУЕМЫХ СПЕЙСЕРОВ 5S рДНК КАК БАЗИС ДЛЯ СОЗДАНИЯ СИСТЕМ ИДЕНТИФИКАЦИИ СОРТОВ И ГИБРИДОВ РОДА <i>CITRUS</i> ..13	
Александров О.С.	
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ В СПИДБРИДИНГЕ (SPEED BREEDING): СОЧЕТАНИЕ МЕТОДИК И ВЛИЯНИЕ НА ХОД РАБОТЫ.....14	
Алкубеси М., Блинков А.О., Зеленина А.С., Рубец В.С., Дивашук М.Г.	
ВЗАИМОСВЯЗЬ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ДИКОГО ВИДА КАРТОФЕЛЯ <i>S. SHASOENSE</i> К Y ВИРУСУ КАРТОФЕЛЯ С НАЛИЧИЕМ ДНК МАРКЕРОВ ГЕНА УСТОЙЧИВОСТИ <i>RYCHS</i> .....15	
Антипов А.Д., Гурина А.А., Рогозина Е.В., Злобин Н.Е.	
ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ СЕЛЕКЦИОННОГО МАТЕРИАЛА ВИКИ ( <i>Vicia L.</i> ) С ПРИМЕНЕНИЕМ SRAP-МАРКЕРОВ .....16	
Антонов А.А.	
ИССЛЕДОВАНИЕ КРУПНЫХ ИНТРОГРЕССИЙ В ГЕНОМАХ РОССИЙСКИХ СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ И ВЫЯВЛЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ДОНОРОВ....18	
Васильев А.В., Ермолаев А.С., Ульянов Д.С., Воронежская В.С., Съедина Н.М.	
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ ОБРАЗЦОВ КУКУРУЗЫ К ГЕТЕРОЗИСНЫМ ГРУППАМ НА ОСНОВЕ ОЦЕНКИ МАКСИМАЛЬНОГО ПРАВДОПОДОБИЯ МУЛЬТИЛОКУСНЫХ НАБОРОВ SNP.....19	
Воронежская В.С., Ермолаев А.С., Ульянов Д.С., Дмитриева А.Р., Съедина Н.М., Васильев А.В., Сотченко Д.Ю., Сотченко Дм.Ю., Тоцаков С.В.	
ВЛИЯНИЕ СОВМЕСТНОГО ЗАРАЖЕНИЯ ВИРУСАМИ НА БИОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И УРОЖАЙНОСТЬ КАРТОФЕЛЯ В ВЕГЕТАЦИОННЫХ ОПЫТАХ .21	
Гайсина Э.М., Пакина Е.Н., Игнатов А.Н.	
КЛИМАТИЧЕСКИЕ КАМЕРЫ УСКОРЕННОГО РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ (SPEED BREEDING): КАК ПОЛУЧИТЬ 4 ПОКОЛЕНИЯ КУКУРУЗЫ ( <i>Zea Mays L.</i> ) ЗА ГОД...22	
Дмитриева А.Р., Симоненко Д.С., Блинков А.О., Свистунова Н.Ю., Канунникова В.Ю., Деревянко А.А., Кочешкова А.А., Дивашук М.Г.	
ПОЛУЧЕНИЕ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ ГИБРИДОВ F1 ТОМАТА С КОМПЛЕКСОМ АЛЛЕЛЕЙ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИХ ПОВЫШЕННОЕ НАКОПЛЕНИЕ АНТОЦИАНОВ И КАРОТИНОИДОВ .....23	
Дрозд Е.В., Бабак О.Г., Некрашевич Н.А., Анисимова Н.В., Яцевич К.К., Пугачева И.Г., Добродькин М.М., Кильчевский А.В.	
ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ТРИТИКАЛЕ В ОТНОШЕНИИ <i>PUCCINIA GRAMINIS</i> F. SP. <i>TRITICI</i> .....25	
Дудникова К.Ю., Дудников М.В., Баранова О.А.	
ПРИМЕНЕНИЕ KASP МАРКЕРОВ В ИЗУЧЕНИИ МОРОЗОСТОЙКОСТИ У ПШЕНИЦЫ.....26	
Есина М.С., Черноок А.Г., Беспалова Л.А., Агаева Е.В., Дивашук М.Г.	
МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ВЫРАЩИВАНИЮ ТВЁРДОЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ СПИДБРИДИНГА (SPEED BREEDING) ДЛЯ РЕШЕНИЯ СЕЛЕКЦИОННЫХ ЗАДАЧ.....27	
Зеленина А.С., Яновский А.С., Бизякина Д.О., Нагамова В.М., Рубец В.С., Блинков А.О., Коробкова В.А., Юркина А.И., Беспалова Л.Ю., Карлов Г.И., Дивашук М.Г.	

ИДЕНТИФИКАЦИЯ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА <i>PSY-A1</i> В КОЛЛЕКЦИИ СОРТОВ И ЛИНИЙ ТВЁРДОЙ ПШЕНИЦЫ НАЦИОНАЛЬНОГО ЦЕНТРА ЗЕРНА ИМЕНИ П.П. ЛУКЪЯНЕНКО .....	29
Коробкова В.А., Яновский А.С., Самарина М.А., Беспалова Л.А., Мудрова А.А., Архипов А.В., Ульянов Д.С., Карлов Г.И., Дивашук М.Г.	
УСКОРЕННАЯ ОЦЕНКА И ОТБОР ЦЕННЫХ ГЕНОТИПОВ КАРТОФЕЛЯ НА ОСНОВЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ .....	30
Королева А.К., Поливанова О.Б., Казаков О.Г.	
ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНОМА ВИРУСА БОЛЕЗНИ АУЕСКИ МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ .....	31
Коротин А.В., Сухер М.М., Крутько С.А., Кольцов А.Ю., Кольцова Г.С.	
МИКРОБИОМНЫЙ АНАЛИЗ ВОССТАНАВЛИВАЮЩИХСЯ ПОСЛЕ ВЫСЫХАНИЯ РАСТЕНИЙ И РИЗОСФЕРНЫХ ПОЧВ .....	33
Ляпина И.С., Чеботарь В.К., Фесенко И.А.	
РАЗРАБОТКА МОЛЕКУЛЯРНОГО МАРКЕРА НА ГЕН <i>BT2</i> У <i>TRITICUM AESTIVUM</i> И ПОИСК АССОЦИАЦИЙ С ХОЗЯЙСТВЕННО ЦЕННЫМИ ПРИЗНАКАМИ .....	34
Мохов Т.Д., Кочешкова А.А., Баженов М.С., Меглицкая Я.С., Архипов А.В., Ермолаев А.С., Дивашук М.Г., Карлов Г.И.	
ПРИМЕНЕНИЕ ДАЛЬНЕГО КРАСНОГО СПЕКТРА НА ЗЛАКАХ В УСЛОВИЯХ СПИДБРИДИНГА ( <i>SPEED BREEDING</i> ) .....	35
Нагамова В.М., Блинков А.О., Минькова Я.В., Свистунова Н.Ю., Лаппо А.А., Радзениеце С., Кочешкова А.А., Дивашук М.Г.	
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФЕНОЛОГИЧЕСКИХ ФАЗ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ ( <i>TRITICUM AESTIVUM L.</i> ) В УСЛОВИЯХ СПИДБРИДИНГА ( <i>SPEED BREEDING</i> ) И В ПОЛЕВЫХ ИСПЫТАНИЯХ .....	37
Наждодов Б.Б., Варданын Г.А., Маренкова А.Г., Деревянко А.А., Игонин В.Н., Рубец В.С., Пылнев В.В., Черноок А. Г., Кочешкова А.А., Дивашук М.Г.	
ЭФФЕКТЫ ГЕТЕРОЛОГИЧНОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ ( <i>MADS-box</i> , <i>YABBY</i> ) И РЕДАКТИРОВАНИЯ ГЕНОВ МЕТАБОЛИЗМА ( <i>PHO1a</i> , <i>PDS</i> ) НА ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ ОНТОГЕНЕЗА <i>Nicotiana tabacum</i> и <i>Solanum tuberosum</i> .....	39
Нежданова А.В., Щенникова А.В.	
ХЛОРОПЛАСТНЫЙ ГЕНОМ КРАСНОЙ СМОРОДИНЫ ( <i>RIBES RUBRUM L.</i> ) .....	40
Пикунова А.В., Горюнова С.В., Горюнов Д.В., Должикова М.А.	
НАНОПОРОВОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ МУЛЬТИПЛЕКСНЫХ ПЦР-ПРОДУКТОВ С ПОМОЩЬЮ <i>RAPID BARCODING KIT</i> .....	42
Полховская Е. С., Груздев И.В., Москалёв Е.А., Киров И.В.	
ИЗУЧЕНИЕ ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА УСКОРЕНИЕ ЯРОВИЗАЦИИ У ОСНОВНЫХ ОЗИМЫХ ЗЛАКОВ В УСЛОВИЯХ СПИДБРИДИНГ ( <i>SPEED BREEDING</i> ).....	43
Радзениеце С., Бизякина Д.О., Алкубеси М., Крупина А.Ю., Свистунова Н.Ю., Канунникова В.Ю., Блинков А.О., Кочешкова А.А., Дивашук М.Г.	
ВЛИЯНИЕ ФОТОПЕРИОДА НА СКОРОСТЬ РАЗВИТИЯ И УРОЖАЙНОСТЬ СОИ В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННОГО КЛИМАТА .....	45
Свистунова Н.Ю., Ромашкина С.И., Канунникова В.Ю., Злобнова Н.В., Кочешкова А.А., Дивашук М.Г., Карлов Г.И.	
СПОСОБ МАРКЕР-КОНТРОЛИРУЕМОГО ОТБОРА ПРОТИВ ГЕНА <i>RG</i> С НИЗКОЙ ЭКСПРЕССИВНОСТЬЮ И ПЕНЕТРАНТНОСТЬЮ В СЕЛЕКЦИИ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ.....	47
Смирнова Н.В., Михайлова А.С., Швачко Н.А., Беспалова Л.А., Хлесткина Е.К.	

МЕТОД ИДЕНТИФИКАЦИИ СЕГМЕНТОВ ИНТРОГРЕССИЙ НА МИНИМАЛЬНОМ КОЛИЧЕСТВЕ РИДОВ.....	48
Сьедина Н.М., Ермолаев А.С., Ульянов Д.С., Воронежская В.С., Васильев А.В., Тошаков С.В., Дивашук М.Г.	
ПОИСК СОРТОВ-ДОНОРОВ ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ НА ХЛЕБОПЕКАРНЫЕ КАЧЕСТВА В УСЛОВИЯХ ОМСКОЙ ОБЛАСТИ.....	49
Урман М.В., Мухордова М.Е.	
ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОТОКОЛА VIGS ДЛЯ <i>CAPSICUM ANNUM</i> L. ....	52
Шингалиев А.С., Енгальчева И.А., Власова А.В., Дудников М. В., Киров И.В.	
<b>СЕКЦИЯ «ГЕНОМНОЕ РЕДАКТИРОВАНИЕ И ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ»</b>	
HARNESSING CRISPR/CAS9 FOR ENHANCED ABIOTIC STRESS TOLERANCE IN CROPS: FUTURE RESEARCH DIRECTIONS .....	54
Turaev O.S., Abdirahimova S.Sh., Erjigitov D.Sh., Dolimov A.A., Khasanov Kh.M., Ziyaev Z.M.	
АГРОБАКТЕРИАЛЬНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ У РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ РЫЖИКА ПОСЕВНОГО С ПОМОЩЬЮ ПОДХОДА FLORAL DIP.....	55
Веселкин А.А.	
ПОДБОР УСЛОВИЙ ДЛЯ ИНДУКЦИИ КАЛЛУСООБРАЗОВАНИЯ, РЕГЕНЕРАЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ И РИЗОГЕНЕЗА У ЛЮПИНА УЗКОЛИСТНОГО ( <i>LUPINUS ANGUSTIFOLIUS</i> ) В КУЛЬТУРЕ <i>IN VITRO</i> .....	57
Жгунов И.С., Мартиросян Л.Ю., Мартиросян Ю.Ц.	
НОКАУТ ГЕНОВ <i>StDMR6-1</i> И <i>StPAIN-1</i> КАРТОФЕЛЯ <i>S. TUBEROSUM</i> ТЕХНОЛОГИЕЙ CRISPR/CAS9 .....	59
Волков М.К., Антипов А.Д., Сущенко А.С., Монахова Ю.В., Трофимов А.С., Карлов В.Д.	
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНОМНОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ И ЯЧМЕНЯ .....	60
Киселёва А.А., Тимонова Е.М., Бережная А.А., Короткова А.М., Коложвари А.Э., Нестеров М.А., Кочетов А.В., Салина Е.А.	
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВЕКТОРА НА ОСНОВЕ ВИРУСА МИКСОМЫ КРОЛИКОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА CD2V РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ.....	61
Кольцов А.Ю., Сухер М.М., Крутько С.А., Белов С.В., Кольцова Г.С.	
ИЗУЧЕНИЕ ФАКТОРОВ ИНИЦИАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ СЕМЕЙСТВА eIF4E ТАБАКА ВО ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С ВИРУСНЫМ БЕЛКОМ VPg ВИРУСА КАРТОФЕЛЯ Y .....	63
Никаноркина В.В., Криолло Дельгадо Л.М., Таранов В.В., Лебедева М.В.	
VIRUS-INDUCED GENE EDITING AS NEW BRANCH OF BIOLOGICAL MUTAGENESIS .....	64
Polkhovskiy A.V., Dmitrieva M.V., Kirov I.V.	
ИЗУЧЕНИЕ ВРЕМЕНИ ВКЛЮЧЕНИЯ И СИЛЫ ПРОМОТОРОВ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ.....	65
Рудакова С.В., Сухер М.М., Кольцов А.Ю., Кольцова Г.С.	
БЕЛОК p11.5 ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ МАРКЕР ДЛЯ РАЗРАБОТКИ DIVA-ВАКЦИН.....	67
Сухер М.М., Кольцов А.Ю., Крутько С.А., Белов С.В., Коротин А.В., Рудакова С.В., Кольцова Г.С.	
СОЗДАНИЕ РАПСА С УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ИМИДАЗОЛИНОНАМ ПРИ ПОМОЩИ МЕТОДОВ ГЕНОМНОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ .....	68
Терентьева У.А., Лебедева М.В., Ражина О.Л., Таранов В.В.	

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОМОТОРА ГЕНА ДЕФЕНЗИНА <i>Sm-D1</i> В ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЯХ ЗАВИСИТ ОТ ОРГАНИЗАЦИИ ОБЛАСТИ Т-ДНК БИНАРНОГО ВЕКТОРА .....	70
Трофимов А.С., Стрельникова С. Р., Комахин Р.А.	
КАСПАЗОПОДОБНЫЕ БЕЛКИ КАК МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ РАЗВИТИЯ АЭРЕНХИМЫ В КОРНЯХ ЯЧМЕНЯ ( <i>HORDEUM VULGARE L.</i> ) В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ .....	72
Янушкевич М. А., Тугбаева А. С., Киселёва И. С.	

### **СЕКЦИЯ «КЛЕТочНЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ, РЕГУЛЯТОРЫ РОСТА И РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ»**

ВЛИЯНИЕ ЦИТОКИНИНОВ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ.....	75
<i>LYSIUM RUTHENICUM</i> MURR. ....	75
Абдирахимова С.Ш., Тураев О.С.	
ВЛИЯНИЕ ЗООГУМУСА НА ПРОДУКТИВНОСТЬ ШАФРАНА ( <i>CROCUS SATIVUS L.</i> )	76
Хужамшукуров Н.А., Рузметова Н.К., Жураев Г.Н., Абдиназаров С.Х.	
КУЛЬТУРА КЛЕТОК ОБЫКНОВЕННОЙ ЗЛАКОВОЙ ТЛИ ( <i>SCHIZAPHIS GRAMINUM R.</i> ) КАК СУБСТРАТ ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ОБЛИГАТНЫХ ЭНДОСИМБИОНТОВ ТЛЕЙ – <i>BUCHNERA ARHIDICOLA</i> .....	78
Голиванов Я.Ю.	
ВЫДЕЛЕНИЕ ШТАММОВ <i>TRICHODERMA</i> С ПОВЕРХНОСТИ <i>PINUS SYLVESTRIS L.</i> И ИЗУЧЕНИЕ ИХ АКТИВНОСТИ.....	80
Думачева Е.В., Максимова П.В., Акимов А.В., Гаар А.В.	
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДОВ ПОЛУЧЕНИЯ ЧИСТЫХ ЛИНИЙ ДЛЯ ОЗИМОЙ ТВЁРДОЙ ПШЕНИЦЫ .....	82
Бизякина Д.О., Нагамова В.М., Алкубеси М., Радзениеце С.Б., Рубец В.С., Блинков А.О., Дивашук М.Г.	
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ГЕНОТИПОВ ТОМАТА ПО СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ В УСЛОВИЯХ <i>IN VITRO</i> .....	83
Богоутдинова Л.Р., Баранова Е.Н., Шелепова О.В., Халилуев М.Р.	
ПОЛУЧЕНИЕ ПРИВИТОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ОВОЩНОЙ КУЛЬТУРЫ БАКЛАЖАНА (ЛАТ. <i>SOLANUM MELONGÉNA</i> ) ПРИ ПОМОЩИ ТЕХНОЛОГИИ <i>IN VITRO</i> .....	84
Виноградов И.А.	
ВЛИЯНИЕ ФИТОГОРМОНОВ ПРИ СПАСЕНИИ ЗАРОДЫШЕЙ ОТ ОТДАЛЕННОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ ТОМАТА И ПАСЛЕНА ГУЛЯВНИКОЛИСТНОГО .....	86
Вишнякова А.В., Мартиросян А.З., Кобяшова А.Д.	
ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО ЭКСПРЕССИРУЕМЫЕ ПРИ ЗАРАЖЕНИИ ПЕПТИДЫ РЕГУЛИРУЮТ БАЛАНС РОСТА И ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ БИОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ.....	88
Майборода А.Д., Галыш А.А., Мамаева А.С., Ляпина И.С., Ганаева Д.Р., Фесенко И.А.	
СОДЕРЖАНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ МЕТАБОЛИТОВ В КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУРАХ <i>OSIMUM BASILICUM L.</i> .....	89
Гвоздикова, А.М., Поливанова, О.Б., Федорова, Д.Г.	
ПРИМЕНЕНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА ТЫКВЕ ТВЕРДОКОРОЙ В РАССАДНЫЙ ПЕРИОД .....	90
Гончаров А.В., Гаспарян И.Н.	
ДЕЙСТВИЕ ГИПОКСИИ И ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА НА УРОВЕНЬ АФК У РАЗНЫХ ГЕНОТИПОВ ПШЕНИЦЫ.....	92
Даулетова Р.Б., Федореева Л.И., Лазарева Е.М., Кононенко Н.В.	



ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА ВЫСОТУ РАСТЕНИЙ <i>FICUS BENJAMINA</i> L. ....	93
Турищева Д.А., Зубик И.Н.	
БАКТЕРИЗАЦИЯ СЕМЯН ЗЕРНОФУРАЖНЫХ КУЛЬТУР И ФИТОСАНИТАРНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧВЫ .....	95
Корчагина И.А., Шулико Н.Н.	
КРИТИЧЕСКИЕ ЭТАПЫ ПОЛУЧЕНИЯ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ МОРКОВИ СТОЛОВОЙ В КУЛЬТУРЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ МИКРОСПОР <i>IN VITRO</i> .....	97
Кулаков Ю.В., Киракосян Р.Н., Домблides Е.А.	
БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ <i>CURCUMA LONGA</i> L. В КОНТРОЛИРУЕМЫХ УСЛОВИЯХ АЭРОПОННОГО ФИТОТРОНА.....	98
Лысенко Д.А., Мартиросян Л.Ю., Мартиросян В.В.	
ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО ЭКСПРЕССИРУЕМЫЕ ПРИ ЗАРАЖЕНИИ ПЕПТИДЫ РЕГУЛИРУЮТ БАЛАНС РОСТА И ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ БИОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ.....	100
Майборода А.Д., Галыш А.А., Мамаева А.С., Ляпина И.С., Ганаева Д.Р., Фесенко И.А.	
ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРА РОСТА ЦИТОДЕФ НА ОБРАЗОВАНИЕ МИКРОПОБЕГОВ <i>RUBUS ARCTICUS</i> L. РОССИЙСКОЙ СЕЛЕКЦИИ В КУЛЬТУРЕ <i>IN VITRO</i> .....	101
Макаров С.С., Чудецкий А.И.	
ВЫДЕЛЕНИЕ ШТАММОВ <i>TRICHODERMA</i> С ПОВЕРХНОСТИ <i>PINUS SYLVESTRIS</i> L. И ИЗУЧЕНИЕ ИХ АКТИВНОСТИ.....	103
Думачева Е.В., Максимова П.В., Акимов А.В., Гаар А.В.	
СОЗДАНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТОМАТА, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ГЕНЫ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ Sm-AMP-D, Sm-AMP-X и NsLTP1 .....	105
Михель И.М.	
ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ <i>IN VITRO</i> <i>HALOXYLON ARHYLLUM</i> И <i>HALOXYLON PERSICUM</i> .....	107
Моисеева Е. А., Маталин Д.А., Степанова А. Ю.	
ОТРАБОТКА МЕТОДИКИ ПОЛУЧЕНИЯ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ ЯЧМЕНЯ В КУЛЬТУРЕ ПЫЛЬНИКОВ.....	108
Петраш Н.В., Бехтольд Н.П., Пискарев В.В.	
ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ СОРТОВ ЯРОВОЙ И ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВ .....	110
Присяжной Н.А.	
УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ОБРАБОТКА ПОБЕГОВ МЯТЫ ПЕРЕЧНОЙ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПАРОВОЙ ДИСТИЛЛЯЦИИ ЭФИРНОГО МАСЛА.....	111
Радченко Л.Н., Диловарова Т.А., Коновалова Л.Н., Баранова Е.Н.	
ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ УДОБРЕНИЙ НА ВОЛОСИСТЫЕ КОРНИ ШАФРАНА ( <i>CROCUS SATIVUS</i> L.) .....	112
Рузметова Н.К., Хужамшукуров Н.А., Холмуродов Ч.А., Абдиназаров С.Х.	
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ФИТОГОРМОНОВ НА РОСТ И НАКОПЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ СУСПЕНЗИОННЫМИ КЛЕТКАМИ ГОЛУБИКИ ЩИТКОВОЙ <i>VACCINIUM CORYMBOSUM</i> L. ....	114
Рыбин Д.А., Сухова А.А., Семин А.А., Березина Е.В., Брилкина А.А.	
ВЛИЯНИЕ СРОКОВ ЯРОВИЗАЦИИ <i>IN VITRO</i> НА ВЕГЕТАЦИЮ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ И ТРИТИКАЛЕ В УСЛОВИЯХ ФИТОТРОННО-ТЕПЛИЧНОГО КОМПЛЕКСА.....	116
Сайфетдинов Е.А., Ткаченко О.В., Рязанцев Н.В.	
ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА НАКОПЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ КЛЕТОЧНЫМИ КУЛЬТУРАМИ <i>VACCINIUM VITIS-IDAEA</i> L.....	117
Семин А.А., Рыбин Д.А., Сухова А.А., Березина Е.В., Брилкина А.А.	

ВЛИЯНИЕ НЕЙТРАЛИЗУЮЩИХ АГЕНТОВ НА МОРФОЛОГИЮ ГРИБА <i>RHIZOPUS ORYZAE</i> F-814 И ПРОДУКЦИЮ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ .....	119
Середа А. А., Суханова А.А., Ертилецкая Н.Л., Прокопчук Ю.А.	
ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ШТАММА <i>STREPTOMYCES TAURICUS</i> 19/97М НА <i>TARAXACUM KOK-SAGHYZ</i> .....	121
Стаценко Е.А., Мартиросян Л.Ю., Гайдашева И.И., Мартиросян Ю.Ц.	
АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ФИТОГОРМОНОВ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ФЕНОЛЬНОГО СИНТЕЗА У СУСПЕНЗИОННЫХ КЛЕТОК ГОЛУБИКИ ЩИТКОВОЙ .....	123
Сухова А.А., Здобнова Т.А., Рыбин Д.А., Семин А.А., Березина Е.В., Брилкина А.А.	
БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЛУГОВО-ЧЕРНОЗЕМНОЙ ПОЧВЫ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ БИОПРЕПАРАТОВ В УСЛОВИЯХ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ .....	124
Тукмачева Е.В., Шулико Н.Н.	
АКТУАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВВЕДЕНИЯ В КУЛЬТУРУ <i>IN VITRO</i> <i>HYDRANGEA PANICULATA</i> SIEBOLD .....	126
Федоров А. В., Николаев Н. В.	

### СЕКЦИИ «ЦИТОЛОГИЯ И ЦИТОГЕНЕТИКА», «ЦИФРОВОЕ ФЕНОТИПИРОВАНИЕ»

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ <i>AEGILOPS COMOSA</i> .....	129
Гонсалес Франко М.Х., Юркина А.И., Разумова О.В., Дивашук М.Г., Бадаева Е.Д.	
ЦИФРОВОЕ ФЕНОТИПИРОВАНИЕ РАЗМЕРА, ФОРМЫ И ОКРАСКИ ЛИСТЬЕВ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ ДВУХ ВИДОВ БЕРЕЗЫ В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ И НЕДОСТАТКА АЗОТА .....	131
Зятева Е.С., Карунас А.С., Селиванова Е.В., Лебедев В.Г., Шестибратов К.А	
СОЗДАНИЕ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ДЛЯ БЫСТРОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ХРОМОСОМ ЦИТРУСОВ С ПОМОЩЬЮ OLIGO-FISH .....	132
Романов Д.В., Смотрова Ю.Н., Коробкова В.А., Разумова О.В., Александров О.С., Монахос М.Г., Дивашук М.Г.	
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЙ ОСВЕЩЕНИЯ С ДОБАВЛЕНИЕМ $\gamma$ -PGA SAR ПЕПТИДА НА МЕЗОСТРУКТУРУ ЛИСТА МЯТЫ ПЕРЕЧНОЙ.....	134
Савенко Е.М., Богоутдинова Л.Р., Баранова Е.Н., Шелепова О.В.	
РАЗРАБОТКА И ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДА ПРИГОТОВЛЕНИЯ ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ РАСТЕНИЙ РОДА <i>CITRUS</i> .....	135
Смотрова Ю.Н., Коробкова В.А., Разумова О.В., Монахос М.Г., Романов Д.В.	
РАЗРАБОТКА ПЛАТФОРМЫ ДЛЯ ОБРАБОТКИ И ВИЗУАЛИЗАЦИИ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ДАННЫХ .....	136
Ульянов Д.Ю., Ульянова А.А., Литвинов Д.Ю., Кочешкова А.А., Съедина Н.М., Карлов Г.И., Дивашук М.Г.	
ЦИФРОВОЕ ФЕНОТИПИРОВАНИЕ СОИ, ВЫРАЩЕННОЙ ПРИ РАЗНОМ СПЕКТРАЛЬНОМ СОСТАВЕ СВЕТА .....	138
Ульянова А.А., Свистунова Н.Ю., Ульянов Д.Ю., Кочешкова А.А., Карлов Г.И., Дивашук М.Г.	
АНАЛИЗ ПОВТОРЯЮЩИХСЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ <i>DASYPYRUM VILLOSUM</i> .....	139
Юркина А.И., Ульянов Д.С., Крупин П.Ю., Карлов Г.И., Дивашук М.Г.	
СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АДАПТИВНОСТИ ЯРОВОЙ ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ .....	140
Юсов В.С., Юсова О.А., Глушаков Д.А.	
ПРИМЕНЕНИЕ РАМ-ФЛУОРИМЕТРИИ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПРОДУКТИВНОСТИ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ .....	142
Юсова О.А., Николаев П.Н., Глушаков Д.А.	

<b>СЕКЦИЯ «МОБИЛЬНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ ЧЕЛОВЕКА, ЖИВОТНЫХ И РАСТЕНИЙ»</b>	
АКТИВАЦИЯ МОБИЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ У <i>N. BENTHAMIANA</i> МЕТОДОМ VIGS ...	146
Болотина А.А., Меркулов П.Ю., Казанцев М.Ю., Киров И.В.	
РАЗРАБОТКА МЕТОДА ВИРУС-ОПОСРЕДОВАННОЙ АКТИВАЦИИ МОБИЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> .....	147
Перевозчиков Д.В., Власова А.В., Камараули Е.Д., Киров И.В.	
МЕТОДЫ АНАЛИЗА ИНСЕРЦИОННОГО МУТАГЕНЕЗА В ПОПУЛЯЦИИ РАСТЕНИЙ <i>A. THALIANA</i> .....	148
Серганова М.А., Меркулов П.Ю., Ялтанская А.В. , Киров И.В.	

**СЕКЦИЯ  
«ПРИКЛАДНЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ»**

# ИЗУЧЕНИЕ НЕТРАНСКРИБИРУЕМЫХ СПЕЙСЕРОВ 5S рДНК КАК БАЗИС ДЛЯ СОЗДАНИЯ СИСТЕМ ИДЕНТИФИКАЦИИ СОРТОВ И ГИБРИДОВ РОДА *CITRUS*

Александров О.С.

*ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт  
сельскохозяйственной биотехнологии», (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550;  
E-mail: olegandrov@gmail.com*

Растения рода *Citrus* L. возделываются во многих странах с субтропическим и тропическим климатом и имеют важное сельскохозяйственное значение. Определение происхождения того или иного сорта Цитрусовых или соответствия конкретного образца тому или иному сорту часто бывает весьма трудным процессом, потому что межвидовые скрещивания многократно происходили в рамках данной группы растений. В связи с этим весьма актуальным является поиск любого потенциально полезного базиса для создания систем идентификации сортов и гибридов Цитрусовых.

При работе с представителями семейств Salicaceae, Elaeagnaceae, Poaceae хороший потенциал для молекулярного маркирования показали нетранскрибируемые спейсеры (NTS) 5S рДНК [1–6]. Между видами или субгенами данных растений наблюдался устойчивый полиморфизм, позволивший создать эффективные SCAR или CAPS маркеры.

Аmplификация и секвенирование NTS 5S рДНК являются несложным процессом, не требующих предварительного получения данных полногеномного секвенирования, так как осуществляются с использованием универсальных праймеров, подобранных на разные части последовательности гена 5S рДНК, которая является консервативной.

В экспериментах с праймерами 5S1/5S2 [7] в качестве матрицы была использована ДНК образцов коллекции Цитрусовых, собранная в оранжереи ФГБНУ ВНИИСБ (апельсин – 6 обр., бергамот – 2 обр., грейпфрут – 2 образца, кумкват – 2 обр., лайм – 6 обр., лаймкват – 2 обр., лиметта – 1 обр., лимон – 20 обр., мандарин – 9 обр., помело – 2 обр., померанец – 1 обр., понцирус – 1 обр., цитрон – 3 обр.). Профили ампликонов разделились на две группы. В основе первой были фрагменты с NTS длиной 217 п.о. (апельсины, грейпфруты, лаймкваты, лиметты, мандарины, помело, померанец, понцирус), в основе второй – 105 п.о. (лаймы (за исключением кафрского и мексиканского), лимоны (за исключением сорта Россо), цитроны). Помимо этого, некоторые профили содержали дополнительные фрагменты, например, апельсин Гамлин, лайм мексиканский, грейпфрут Юбилейный, мандарин Карликовый Уншиу имели фрагменты, соответствующие длине NTS около 380 п.о., а понцирус и мандарин Тиахара-Уншиу – порядка 77 п.о.

Ампликоны апельсина Гамлин, мандарина иволлистного и сортов Уншиу, Карликовый Уншиу, Тиахара-Уншиу, а также лимонов Лунарио и Россо были клонированы и секвенированы. Всего было получено 40 последовательностей. Данные последовательности отличались по длине: 77 п.о., 105 п.о., 185 п.о., 216-222 п.о., 250 п.о., 381 п.о. Сравнение данных последовательностей показало, что они имеют в начале и в конце общие участки, а различие в длине связано с наличием протяженных делеций/вставок. На основании выявленных мотивов перед делецией/вставкой и в самом её конце была выдвинута гипотеза происхождения изучаемых NTS друг от друга, согласно механизму, описанному ранее для NTS злаков Scoles et al. (1988) [8]. Также для некоторых NTS были найдены полиморфные участки, которые могут быть потенциально полезными для создания сортоспецифичных молекулярных маркеров.

В целом полученные результаты могут послужить базисом для идентификации сортов и гибридов Цитрусовых и быть востребованными в практической селекционной работе и садоводстве.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ, проект № 23-16-00234 “Молекулярно-цитогенетическое изучение рода Цитрус (*Citrus*) для использования в селекции”.

#### **Список литературы:**

1. Alexandrov O.S., Karlov G.I. Development of 5S rDNA-based molecular markers for the identification of *Populus deltoides* Bartr. ex-Marshall, *Populus nigra* L., and their hybrids. *Forests*. 2018;9(10):604.
2. Alexandrov O.S., Karlov G.I. The development of *Populus alba* L. and *Populus tremula* L. species specific molecular markers based on 5S rDNA nontranscribed spacer polymorphism. *Forests*. 2019;10(12):1092.
3. Alexandrov O.S., Razumova O.V., Karlov G.I. A comparative study of 5S rDNA non-transcribed spacers in *Elaeagnaceae* species. *Plants*. 2021;10(1):4.
4. Alexandrov O.S., Karlov G.I. The development of new species-specific molecular markers based on 5S rDNA in *Elaeagnus* L. species. *Plants*. 2021;10(12):2713.
5. Alexandrov O.S., Divashuk M.G., Karlov G.I. Development of the St/J/V genome specific molecular marker on basis of 5S-rDNA polymorphism. *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2018;73(1): 18–23.
6. Alexandrov O.S., Kroupin P.Yu., Karlov G.I., Divashuk M.G. The improvement of the CAPS-marker for St, J and V subgenome identification in *Triticeae* tribe plants using the 5S non-transcribed spacer polymorphism. *Res. Crops*. 2024;25(1):12–19.
7. Falistocco E., Passeri V., Marconi G. Investigations of 5S rDNA of *Vitis vinifera* L.: sequence analysis and physical mapping. *Genome*. 2007;50:927–938.
8. Scoles G.J., Gill B.S., Xin Z.-Y., Clarke B.C., McIntyre C.L., Chapman C., Appels R. Frequent duplication and deletion events in the 5S RNA genes and the associated spacer regions of the *Triticeae*. *Pl. Syst. Evol.* 1988;160(1-2):105–122.

#### **МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ В СПИДБРИДИНГЕ (SPEED BREEDING): СОЧЕТАНИЕ МЕТОДИК И ВЛИЯНИЕ НА ХОД РАБОТЫ**

Алкубеси М.<sup>1,2</sup>, Блинков А.О.<sup>1</sup>, Зеленина А.С.<sup>1,2</sup>, Рубец В.С.<sup>1</sup>, Дивашук М.Г.<sup>1,2</sup>

**1 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт  
сельскохозяйственной биотехнологии», (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550;  
2 – ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва 127550**

Использование молекулярных маркеров (MAS) неоднократно и последовательно доказывало свою эффективность и полезность для последующих схем скрещивания родительских форм, беккроссирования, а также при использовании отдельных растений из расщепляющихся популяций, где трудно проследить наследование одного признака, не имеющего фенотипическое проявление [1]. В настоящее время проводится большая работа по внедрению протоколов Speed Breeding (SB) в различные этапы селекционного процесса, что позволяет нам осуществить полный цикл выращивания пшеницы всего за два месяца и далее посеять следующее поколение. На сегодняшний день уделяется мало внимания сочетанию молекулярно-генетических методов с методами ускоренной селекции. В нашем исследовании для селекции мягкой озимой пшеницы были использованы технологии (MAS) и (SB) в сочетании.

Первым подходом является использование массового генотипирования популяций для последующего отбора пар для скрещиваний с использованием маркеров (KASP): определяется аллельный состав генов *Glu*, *Ppd*, *Rht*, *Vrn*, а также наличие 1B/1R-транслокации.

Второй подход — это проведение гибридизации и обратного скрещивания в условиях быстрого развития (SB), каждое растение, участвующее в гибридизации, предварительно подвергается генотипированию. Проводится это для того, чтобы сократить объём работ по скрещиванию, проведя браковку по генотипу. Также присутствующие в популяциях генотипы пшеницы содержат большое количество аллельных комбинаций, фенотипически не выраженных, что подтверждает необходимость проведения генотипирования.

Третий подход заключается в раскладывании гибридов F1-8 на линии. В условиях камеры ускоренного роста применяется односемянный отбор с параллельным генотипированием растений и отбором по искомому аллелю.

Используя сочетание данных подходов в нашей лаборатории, ведётся работа по созданию полностью *Waxy*- линий мягкой пшеницы, а также проведение дополнительных циклов выращивания расщепляющихся популяций для отбора линий с повышенными хлебопекарными качествами.

Исследование выполнено при финансовой поддержке государственного задания №FGUM-2022-0001.

#### Список литературы:

1. Acquaah G. (2009) Principles of Plant Genetics and Breeding.

### ВЗАИМОСВЯЗЬ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ДИКОГО ВИДА КАРТОФЕЛЯ *S. CHACOENSE* К Y ВИРУСУ КАРТОФЕЛЯ С НАЛИЧИЕМ ДНК МАРКЕРОВ ГЕНА УСТОЙЧИВОСТИ *RyCHC*

Антипов А.Д.<sup>1</sup>, Гурина А.А.<sup>2</sup>, Рогозина Е.В.<sup>2</sup>, Злобин Н.Е.<sup>1</sup>

*1 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550;*

*2 – Всероссийский институт растениеводства имени Н. И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, 190031*

*E-mail: antipovdm37@gmail.com*

Для семейства *Solanaceae*, и, в частности, для картофеля, самым опасным вирусным заболеванием на сегодняшний день можно считать Y вирус картофеля (YVK), заражение которым приводит к большой потере урожая. Одним из основных механизмов защиты растений картофеля от вирусных заболеваний можно считать механизм основанный на генах устойчивости. Так, ген *Ry<sub>chc</sub>*, обнаруженный у дикого картофеля *S. chacoense*, является ценным геном для программ селекции картофеля, поскольку он придает экстремальную устойчивость к YVK. *Ry<sub>chc</sub>* был впервые введен в коммерческий сорт «Конафубуки» из удвоенного *S. chacoense* «w84» и был картирован на дистальном конце длинного плеча девятой хромосомы. В 2022 году группа китайских ученых сообщила о клонировании гена *Ry<sub>chc</sub>* в бактериальные искусственные хромосомы и путем скрининга клонов определила последовательность гена *Ry<sub>chc</sub>* и его принадлежность к группе LRR белков, а также предложила свой ДНК маркер, который направлен на последовательность самого гена [1]. Затем группа японских ученых также получила последовательность *Ry<sub>chc</sub>* и представила свой ДНК маркер, подтвердив ранее полученные данные о последовательности и расположении гена [2]. Примечательно, что в обеих работах была 100% корреляция между фенотипом и наличием маркера на ген *Ry<sub>chc</sub>*. Мы исследовали корреляцию между наличием опубликованных ДНК-маркеров и устойчивостью к YVK в большой выборке генотипов *S. chacoense*. В нашей работе была проведена оценка устойчивости растений *S. chacoense* (43 растения) к YVK путем

механической инокуляции их соком инфицированного *Nicotiana tabacum* и дальнейшей идентификации вирусного поражения методом ИФА. Эта же выборка растений *S.chacoense* была проанализирована на наличие маркеров на ген *Ry<sub>chc</sub>* методом ПЦР. В результате было обнаружено, что у 6 растений отсутствовала корреляция между наличием маркера на ген устойчивости и самой устойчивости к YBK. Таким образом, было показано, что наличие ДНК маркеров на ген *Ry<sub>chc</sub>* у растений *S.chacoense* не дает 100% вероятности, что растение будет устойчиво к YBK. Отсутствие устойчивости при наличии маркерных фрагментов гена *Ry<sub>chc</sub>* дает основания полагать, что в неустойчивых генотипах могут содержаться нефункциональные аллельные варианты гена *Ry<sub>chc</sub>*. Для проверки этого предположения проведено секвенирование полных последовательностей гена *Ry* на платформе OxfordNanopore, которое выявило отсутствие инделей или стоп-кодонов в кодирующей области *Ry<sub>chc</sub>* у растений, имеющих маркеры, но не имеющих устойчивости, что может указывать на другие причины восприимчивости растений к YBK.

#### **Список литературы:**

1. Li G. et al. *Ry<sub>chc</sub>* confers extreme resistance to potato virus Y in potato //Cells. – 2022. – Т. 11. – №. 16. – С. 2577.
2. Akai K. et al. De novo genome assembly of the partial homozygous dihaploid potato identified PVY resistance gene (*Ry<sub>chc</sub>*) derived from *Solanum chacoense* //Breeding Science. – 2023. – Т. 73. – №. 2. – С. 168-179.

## **ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ СЕЛЕКЦИОННОГО МАТЕРИАЛА ВИКИ (*Vicia* L.) С ПРИМЕНЕНИЕМ SRAP-МАРКЕРОВ**

**Антонов А.А.**

**ФГБНУ «Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В.Р. Вильямса» (ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса»);  
E-mail: antonov4B@yandex.ru**

Вика – род бобовых трав, широко возделываемых в нашей стране на корм и в качестве зеленого удобрения. Наиболее распространенные виды – вика посевная (*Vicia sativa* L.) и вика мохнатая (*Vicia villosa* Roth.) [1]. Выведение адаптивных высокопродуктивных сортов нового поколения, обеспечивающих стабильные урожаи зеленой массы и семян – основная задача селекции. Для отбора перспективных форм и контроля сохранения ценных признаков в потомстве необходимы современные надежные методы оценки исходного и селекционного материала. С этой целью в последние десятилетия успешно используют молекулярные ДНК-маркеры.

Цель настоящего исследования состояла в оценке генетического разнообразия отечественного селекционного материала вики посевной и мохнатой с помощью SRAP-маркеров (*Sequence Related Amplified Polymorphism*).

Объектом изучения служила коллекция из 39 сортов и сортообразцов вики посевной и мохнатой. Материал в виде семян был получен в ЦКП «Биологические коллекции кормовых растений ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса» (Московская обл.), а также в биоресурсных коллекциях ВИР им. Н.И. Вавилова (г. Санкт-Петербург) и ФНЦ зернобобовых и крупяных культур (Орловская обл.).

Выделение геномной ДНК для анализа осуществлялось из т.н. «балк-образцов» – суммарной навески надземной части 30 семидневных проростков с помощью SDS-метода с некоторыми модификациями [2]. В анализе использовали 25 комбинаций SRAP-праймеров, нацеленных на амплификацию интрон-экзонных областей генома или т.н. «открытых рамок считывания» (ORF) [3]. В результате предварительного тестирования было отобрано 10 информативных комбинаций, с которыми на полной коллекции



получили 1390 отчетливых и воспроизводимых продуктов ПЦР размером от 100 до 1732 п.н., из них полиморфных – 601. На каждую комбинацию приходилось от 97 (F13-R7) до 181 (F9-Em2 и F13-Em2) ампликона. Средний процент полиморфизма составил 44,7%, что указывает на пригодность данного набора маркеров для анализа генетического разнообразия культуры. Определен уровень полиморфизма для разных видов: у вики посевной – 49,6%; у мохнатой – 24,4%. Это несколько противоречит ожидаемым результатам, поскольку по биологии развития вики посевная – культура самоопыляющаяся, а мохнатая – перекрестник, но объяснимо большей численностью анализируемых образцов в составе первой выборки. С использованием программы «POPGENE» [4] были рассчитаны показатели генетической изменчивости: эффективное число аллелей в среднем составило 1,34, индекс Шеннона – 0,36, а индекс разнообразия по Нею – 0,22. Значения данных показателей свидетельствуют о невысоком генетическом разнообразии анализируемого материала, что может быть связано с использованием близкородственных родительских форм в российских селекционных учреждениях.

Эффективность SRAP-маркерной системы оценили с помощью показателя информативности праймеров (PIC) по формуле, приведенной в работе Чеснокова и Артемьевой [5]. Среднее значение PIC превышало 0,5 и составило 0,82 с вариациями в диапазоне от 0,75 (F13-R7) до 0,86 (F9-R9), что указывает на высокую эффективность применявшегося набора праймеров для анализа. Комбинации маркеров F9-R9 (0,86), F9-EM2 (0,85) и F13-Em2 (0,85) оказались наиболее информативными для оценки генетического полиморфизма вики.

Все испытанные пары праймеров выявляли видовые различия (между викой мохнатой и посевной), некоторые пригодны для идентификации сортов вики посевной. Так, сорт Луговская 98 выделялся сортоспецифичными ампликонами по четырем маркерам: F9-Em2 (807 п.н.), F9-R9 (183 п.н.), F10-R14 (453 п.н.), Me4-R14 (357 п.н.). У сорта Непоседа обнаружен уникальный продукт размером 789 п.н. с маркером Me4-R14, а у сорта Узуновская 8 – 222 п.н. с F13-R7. Сортоспецифичные ДНК-профили получены для сортов вики посевной: Красноуфимская 49, Тулунский Уголек, Луговская 15, Ксения; а также мохнатой: Нежностебельная и Калининградская 6. Вышеуказанные сорта могут быть использованы в качестве перспективного материала при скрещиваниях.

Таким образом, результаты исследования показали эффективность SRAP-маркеров для оценки генетического разнообразия вики. Определены маркеры для дифференциации видов и для идентификации сортов вики посевной: Луговская 98, Узуновская 8 и Непоседа. Выделен перспективный материал для селекции новых отечественных сортов.

#### **Список литературы:**

1. Тюрин Ю.С., Косолапов В.М. Селекция сортов вики посевной зернофуражного и укосного использования. Кормопроизводство. 2015. 7:29.
2. Клименко И.А., Антонов А.А., Душкин В.А., Шамустакимова А.О., Мавлютов Ю.М. Эффективный способ выделения ДНК для ПЦР-анализа из «балк-образцов» проростков. Адаптивное кормопроизводство. 2021. 3(47):29-48.
3. Rhouma H.B., Taski-Ajdukovic K., Zitouna N., Sdouga D., Milic D., Trifi-Farah N. Assessment of the genetic variation in alfalfa genotypes using SRAP markers for breeding purposes. Chilean journal of agricultural research. 2017. 77(4):332-339.
4. Yeh F.C., Yang R.C., Boyle T.B., Ye Z.H., Mao J. X. POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis. Molecular biology and biotechnology centre, University of Alberta, Canada. 1997. 10:295-301.
5. Чесноков Ю.В., Артемьева А.М. Оценка меры информационного полиморфизма генетического разнообразия. Сельскохозяйственная биология. 2015. (5):571-578.

# ИССЛЕДОВАНИЕ КРУПНЫХ ИНТРОГРЕССИЙ В ГЕНОМАХ РОССИЙСКИХ СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ И ВЫЯВЛЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ДОНОРОВ

Васильев А.В.<sup>1</sup>, Ермолаев А.С.<sup>1</sup>, Ульянов Д.С.<sup>1</sup>, Воронежская В.С.<sup>1,2</sup>,  
Сьедина Н.М.<sup>1</sup>

1 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт  
сельскохозяйственной биотехнологии», (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550;  
E-mail: biotech@iab.ac.ru

2 – ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и  
агроэкологии Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»,  
Обнинск

Введение полезных интрогрессий в геном мягкой пшеницы, полученных из дикой природы, представляет собой один из способов увеличения генетического разнообразия для последующей селекции. Поскольку интрогрессии и инсерции обеспечивают генетический материал из вторичных и третичных пулов генов, они могут содержать гены, критически важные для сельского хозяйства. Гибридизация мягкой пшеницы сталкивается с рядом ограничений и часто невозможна с представителями даже своего рода. Этот фактор делает поиск интрогрессий и инсерций из других родов и видов важным методом для внедрения новых ценных генов, наряду с использованием посредников для скрещивания. Гены, обнаруженные в интрогрессиях, могут быть интегрированы в пангеном мягкой пшеницы, поскольку они были получены в результате скрещивания с близкородственными организмами и последующей рекомбинации и будут входить во вторичный или третичный пулы генов. В данном исследовании мы применяем метод конкурентного картирования, который уже продемонстрировал свою эффективность в исследованиях, связанных с людьми [1], животными и метагеномикой, но еще не использовался для растений.

В данном исследовании использовался генетический материал, полученный методом генотипирования на основе секвенирования (Genotyping-by-sequencing, GBS), извлеченный из линий коллекции «Арсенал». Эта коллекция была сформирована на основе растений мягкой пшеницы, скрещенных с представителями рода *Aegilops* (*Ae. speltoides*, *Ae. triuncialis*), а также с *T. kiharae* в роли опылителей. В рамках работы был проведен тщательный анализ интрогрессий, используя все доступные в GenBank сборки геномов первичного, вторичного и третичного пулов генов мягкой пшеницы [2], собранные до уровня хромосом или выше. Для определения как положения интрогрессий, так и возможных доноров использовался подход конкурентного картирования (competitive mapping). Этот метод подразумевает выравнивание генетического материала на синтетическую аллополиплоидную сборку (CAC), состоящей из геномов реципиента и предполагаемого донора. В результате риды картировались на две сборки одновременно. В общей сложности было использовано 19 CAC, включающих геномную сборку мягкой пшеницы (Chinese Spring v2.1) и донорские виды с H, U, G, S, A, V, E, R, D и C геномами. Результаты картирования позволили не только идентифицировать зоны интрогрессий, но и регионы, вероятно, принадлежавшие донору.

Преимуществом метода конкурентного картирования является более точное определение границ коротких интрогрессий, что достигается за счёт картирования ридов с этих участков в более «подходящие» места на геноме донора. Программы для картирования коротких ридов, настроенные на максимальное соответствие в выравнивании с геномным референсом, позволяют выявлять участки, которые специфически картируются на геном донора, а не на геном мягкой пшеницы. Такие участки будут характеризоваться повышенным покрытием на геноме донора и пониженным покрытием на геноме реципиента.

Для определения зон интрогрессий количество картированных ридов было рассчитано в неперекрывающихся окнах генома размером в 1 Мbp и нормализовано по общему количеству картированных ридов с помощью скрипта на Python. Для визуализации результаты картирования были представлены в виде хитмапов, с дополнительной нормализацией среди одинаковых окон (совпадающая хромосома и координаты) для разных образцов. Визуальный анализ тепловых карт проводился с целью поиска интрогрессий, инсерций, дубликаций и возможных делеций.

Анализ тепловых карт, полученных в результате картирования генетического материала коллекции «Арсенал» на основе 19 САС, выявил 5 инсерций, 13 дубликаций, 19 предполагаемых делеций и 126 интрогрессий. Обнаруженные интрогрессии варьировались по размеру от 3 до 802 Мbp (почти целая хромосома). С использованием существующих аннотаций регионы хромосомных перестроек были функционально аннотированы. Результаты данного исследования показывают, что гены, представленные в интрогрессиях и инсерциях, могут быть использованы для создания пангенома мягкой пшеницы. Несмотря на простоту реализации данного метода, его существенным недостатком является низкое разрешение, что позволяет обнаруживать только большие интрогрессии, а также делает затруднительным однозначное определение вида донора для близкородственных геномов (например, внутри семейства S-геномов).

#### **Список литературы:**

1. Feuerborn T.R. et al. Competitive mapping allows for the identification and exclusion of human DNA contamination in ancient faunal genomic datasets // BMC Genomics. 2020. Vol. 21, № 1. P. 844.
2. Keilwagen J. et al. Detecting major introgressions in wheat and their putative origins using coverage analysis // Sci. Rep. 2022. Vol. 12, № 1. P. 1908.

### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ ОБРАЗЦОВ КУКУРУЗЫ К ГЕТЕРОЗИСНЫМ ГРУППАМ НА ОСНОВЕ ОЦЕНКИ МАКСИМАЛЬНОГО ПРАВДОПОДОБИЯ МУЛЬТИЛОКУСНЫХ НАБОРОВ SNP**

**Воронежская В.С.<sup>1,2</sup>, Ермолаев А.С.<sup>1</sup>, Ульянов Д.С.<sup>1</sup>, Дмитриева А.Р.<sup>1</sup>,  
Съедина Н.М.<sup>1</sup>, Васильев А.В.<sup>1</sup>, Сотченко Д.Ю.<sup>1,3</sup>, Сотченко Дм.Ю.<sup>1,3</sup>, Тошаков С.В.<sup>4</sup>**

*1 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт  
сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва;  
E-mail: biotech@iab.ac.ru*

*2 – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский  
научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии Национального  
исследовательского центра «Курчатовский институт», Обнинск 249037;  
E-mail: rirae70@yandex.ru*

*3 – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский  
научно-исследовательский институт кукурузы», Пятигорск 357528;  
E-mail: vniikukuruzu@yandex.ru*

*4 – Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»,  
Москва 123098; E-mail: nrcki@nrcki.ru*

Явление гетерозиса заключается в увеличении агрономически важных показателей гетерозиготных гибридов F1 по сравнению с гомозиготными инбредными родителями. Кукуруза была одной из первых культур, для которых гетерозис был использован в селекционном процессе. В современной селекции кукурузы используется несколько основных гетерозисных групп. Гетерозисная группа — это коллекция различных

генотипов, дающих схожие по характеристикам гибриды при скрещивании с особями противоположных различных групп для получения лучшего потомства. При скрещивании растений, относящихся к одной группе, создаются новые инбредные линии, а в результате скрещивания разных групп создаются высокопродуктивные гибриды.

Определение гетерозисных групп крайне важно для селекции кукурузы и требует создания точных маркеров. Ранее для определения гетерозисных групп кукурузы преимущественно использовались ПЦР-маркеры (SSR, RAPD, AFLP и др.), однако с развитием технологий секвенирования наиболее активно стали использоваться SNP-маркеры, поскольку их легче идентифицировать в большом количестве и они обладают более высокой разрешающей способностью [1, 2]. В литературе уже описано SNP-генотипирование кукурузы с использованием транскриптомного [3] и полногеномного секвенирования с высоким покрытием [4]. GBS (Genotyping-by-sequencing) также применялся для американских и китайских сортов [5].

В нашей работе представлен метод классификации образцов кукурузы по гетерозисным группам с использованием данных GBS, основанный на кластеризации образцов с референсными геномными сборками основных инбредных линий — B73 (Stiff Stalk), PH207 (Iodent), Mo17 (Lancaster), EP1 (Flint). В результате первичного SNP-коллинга было проанализировано 174 образца и было выявлено 833955 уникальных SNP. В базе данных SRA доступны референсные инбредные линии, полученные при помощи технологии полногеномного секвенирования (Whole-genome sequencing, WGS). Их использование в качестве референсных прочтений позволяет обнаружить и сопоставить геномные маркеры в коллекции. Комбинация GBS и WGS позволяет достичь более точных результатов, объединяя экономичность и масштабируемость GBS с глубоким покрытием и точностью WGS, что особенно важно для селекции и исследований генетических ресурсов. Результаты первичного SNP-коллинга для GBS и WGS-якорей были объединены с использованием программы Vcftools 1.20 [6]. Для повышения точности кластеризации пропущенные генотипы были предсказаны на основании генотипированных гапблоков с помощью программы Beagle 5.4 [7]. Всего было выбрано 1247 дискриминирующих SNP на основе анализа неравновесия сцепления локусов (linkage disequilibrium). Кластеризация проводилась в программе ADMIXTURE на основе оценки максимального правдоподобия мультилокусных наборов [8]. Результаты кластеризации показали, что выделенные группы образцов хорошо коррелируют с известными гетерозисными группами, что подтверждает эффективность нашего метода.

Таким образом, в нашей работе был применен ранее не описанный метод кластеризации образцов GBS-секвенирования с WGS основных гетерозисных групп. Одним из главных преимуществ данного подхода является отсутствие необходимости в секвенировании геномов известных гетерозисных групп, что значительно сокращает временные и ресурсные затраты. Этот подход не только снижает затраты на исследование, но и делает его более доступным в условиях отсутствия коллекции якорных линий. Разработанный нами оптимизированный подход актуален для селекционных программ кукурузы, направленных на создание новых гибридов с повышенной продуктивностью.

Финансирование проекта осуществлялось Министерством науки и высшего образования РФ (соглашение № 075-15-2019-1667).

#### **Список литературы:**

1. Frascaroli E., Schrag T. A., Melchinger A. E. Genetic diversity analysis of elite European maize (*Zea mays* L.) inbred lines using AFLP, SSR, and SNP markers reveals ascertainment bias for a subset of SNPs // TAG. Theoretical and applied genetics. Theoretische und angewandte Genetik. 2013. № 1 (126). P. 133–141.
2. Yuan L. X. [et al.]. [Comparison of genetic diversity among maize inbred lines based on RFLPs, SSRs, AFLPs and RAPDs] // Yi Chuan Xue Bao = Acta Genetica Sinica. 2000. № 8 (27). P. 725–733.

3. Mazaheri M. [et al.]. Genome-wide association analysis of stalk biomass and anatomical traits in maize // BMC Plant Biology. 2019. (19). P. 45.
4. Bornowski N. [et al.]. Genomic variation within the maize stiff-stalk heterotic germplasm pool // The Plant Genome. 2021. № 3 (14). P. e20114.
5. Shu G. [et al.]. Genetic variation and population structure in China summer maize germplasm // Scientific Reports. 2021. № 1 (11). P. 8012.
6. Danecek P. [et al.]. Twelve years of SAMtools and BCFtools // GigaScience. 2021. № 2 (10). P. giab008.
7. Browning B. L., Zhou Y., Browning S. R. A One-Penny Imputed Genome from Next-Generation Reference Panels // The American Journal of Human Genetics. 2018. № 3 (103). P. 338–348.
8. Mazaheri M. [et al.]. Genome-wide association analysis of stalk biomass and anatomical traits in maize // BMC Plant Biology. 2019. (19). P. 45.

## **ВЛИЯНИЕ СОВМЕСТНОГО ЗАРАЖЕНИЯ ВИРУСАМИ НА БИОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И УРОЖАЙНОСТЬ КАРТОФЕЛЯ В ВЕГЕТАЦИОННЫХ ОПЫТАХ**

**Гайсина Э.М., Пакина Е.Н., Игнатов А.Н.**

*Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы» (РУДН им. Патриса Лумумбы), 17198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8 к.2.  
E-mail: Ignatov\_an@pfur.ru*

Картофель подвержен воздействию множества вирусов, которые в значительной степени способствуют снижению урожайности и качества в зависимости от сорта культуры и вида вируса. Снижение урожайности при посадке клубней, зараженных вирусом картофеля игрек (PVY), составило примерно 38% у сортов с со средней восприимчивостью и доходило до 63,5% у сильно-восприимчивых сортов (Whitworth et al., 2006). Растения, выращенные из семян, зараженных вирусом картофеля S, дали урожай всего на 5-10% ниже, чем растения, выращенные из здоровых семян (Hamm and Hane 1999). Kolychikhina с коллегами (2021) оценили потери урожая в Липецкой и Астраханской областях от совместного заражения картофеля вирусами Y, M и S в 54,9%. В этом исследовании изучалось влияние совместного заражения PVY и PVS на урожайность сорта картофеля ЛаСтрада. Этот сорт оказался сильно пораженным в 2021-2022 гг. в полевых условиях Московской и Астраханской областей РФ (Samarskaya et al. 2023). Для опыта использовали здоровые и зараженные клубни одной репродукции, сгруппированные в соответствии с предварительным серологическим анализом естественного заражения, проведенным в фазу проростков. Клубни высаживались в компост в 3 и 10 л вазонах, и выращивались в открытом грунте в условиях 2024 г. при ежедневном поливе и регулярной подкормке, соответствующей оптимальному соотношению NPK для картофеля. Растения регулярно обрабатывали инсектицидами для предотвращения переноса вирусов насекомыми. Реакция растений на вирусную инфекцию по отдельности и совместное заражение (PVY + PVS) была разной. У растений, инфицированных PVY, наблюдались некроз, сморщивание листьев, некроз меж-жилковых тканей, пятнистость листьев и пятнистость клубней. При заражении одним вирусом PVS симптомы болезни не наблюдались, рост растений незначительно отставал от контроля. Когда оба вируса поражали растения, симптомы характеризовались яркими хлоротичными пятнами и некротизированными краями листьев, существенной задержкой роста и деформацией листьев. Степень проявления вирусного заболевания была

значительно выше при смешанном заражении растений, чем при одиночном. Высокая степень тяжести заболевания привела к значительному снижению урожайности, числа клубней на растение, числа листьев на растении, высоты и массы растений. Совместная инфекция двумя вирусами привела к снижению товарного урожая в среднем на 45,3%. Одиночное заражение PVY привело к снижению урожая на 22,1%, в то время как PVS вызвал снижение урожая на 10,1%. Различия между вариантами были достоверны на 95% уровне значимости. Эффект совместного заражения был выше, чем суммарное значение одиночных инфекций, что позволяет предположить, что эти два вируса взаимодействовали синергично. Кроме того, полученные данные содержания вирусов методом иммуноферментного анализа (ELISA) в растениях в конце вегетации показали положительную корреляцию между титрами вирусов и потерями урожая и также синергетическое взаимодействие между ними. Другие вирусы картофеля в опытных образцах не выявлены. Полученные результаты подтверждают факт, того, что множественные вирусные инфекции значительно увеличивают ущерб от вирусных заболеваний картофеля по сравнению с одиночными инфекциями (Kolychikhina et al., 2021^ Amir Nameed et al., 2014), и для сохранения урожая картофеля требуется эффективная стратегия борьбы с зараженностью посадочного материала.

Публикация подготовлена при поддержке Минобрнауки России (Проект FSSF-2023-0015).

#### **Список литературы:**

1. Kolychikhina, M.S., Beloshapkina, O.O. and Phiri, C., 2021, February. Change in potato productivity under the impact of viral diseases. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 663, No. 1, p. 012035). IOP Publishing.

2. Samarskaya, V.O.; Ryabov, E.V.; Gryzunov, N.; Spechenkova, N.; Kuznetsova, M.; Пина, I.; Suprunova, T.; Taliansky, M.E.; Ivanov, P.A.; Kalinina, N.O. The Temporal and Geographical Dynamics of Potato Virus Y Diversity in Russia. *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24, 14833. <https://doi.org/10.3390/ijms241914833>

3. Whitworth, J. L., Nolte, P., McIntosh, C., and Davidson, R. 2006. Effect of Potato virus Y on yield of three potato cultivars grown under different nitrogen levels. *Plant Dis.* 90:73-76

4. Hamm, P. B., and Hane, D. C. 1999. Effects of seedborne potato leafroll virus on Russet Norkotah potato. *Plant Dis.* 83:1122-1124.

5. Amir Nameed, Zafar Iqbal, Shaheen Asad, and Shahid Mansoor Detection of Multiple Potato Viruses in the Field Suggests Synergistic Interactions among Potato Viruses in Pakistan *Plant Pathol J.* 2014 Dec; 30(4): 407–415. doi: 10.5423/PPJ.OA.05.2014.0039

### **КЛИМАТИЧЕСКИЕ КАМЕРЫ УСКОРЕННОГО РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ (SPEED BREEDING): КАК ПОЛУЧИТЬ 4 ПОКОЛЕНИЯ КУКУРУЗЫ (*Zea Mays* L.) ЗА ГОД**

**Дмитриева А.Р., Симоненко Д.С., Блинков А.О., Свистунова Н.Ю., Канунникова В.Ю., Деревянко А.А., Кочешкова А.А., Дивашук М.Г.**

***ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва  
E-mail: biotech@iab.ac.ru***

Создание гетерозисных гибридов — одна из главных целей в селекции кукурузы. Процесс получения чистых линий родительских форм, перевод материнской линии на стерильную основу и первичное семеноводство гибрида может занимать от 10 до 15 лет. Сократить время можно с помощью инновационного метода ускоренного выращивания

растений — «Speed breeding» (далее SB). Он позволяет уменьшить время вегетации и получить больше поколений за год. Для этого нужно контролировать продолжительность светового дня, интенсивность и качество света, температуру, а также преждевременно собирать семенной материал и преодолевать послеуборочный покой [1]. На данный момент не существует разработанного протокола ускоренного выращивания кукурузы. Целью данной работы было проведение экспериментов, с целью определения оптимальных параметров для ускорения цветения, формирования хорошо озернённых початков и сокращения периода созревания.

Для ускорения цветения были подобраны оптимальные условия: короткий фотопериод 10 ч день / 14 ч ночь, интенсивность света около 800 мкмоль/м<sup>2</sup>/с, температура 26 °С днём и 20 °С ночью, влажность воздуха 50 %. Кукурузу выращивали в горшках объёмом 11 литров — меньший объём приводит к формированию маленьких початков или их отсутствию. В условиях ускоренного выращивания сильно проявляется протерандрия, поэтому рекомендуется высевать растения одного генотипа несколько раз с интервалом в 5–7 дней. Для уменьшения времени созревания, применима принудительная сушка на 20-е сутки после первого опыления или использование эмбриокультуры.

Благодаря подобранным нами параметрам, время от посева до сбора урожая составляет от 76 до 99 дней, в зависимости от генотипа и ФАО. Используя эти условия, мы активно проводим практические работы: выращиваем растения-доноры для геномного редактирования, быстро выращиваем гаплопродюсеры для их последующего скрещивания с пшеницей, размножаем и поддерживаем линии, а также проводим инцухт.

При финансовой поддержке Курчатовского геномного центра-ВНИИСБ, Соглашение 075-15-2019-1667.

#### **Список литературы:**

1. Xu Y. et al. Feeding the world using speed breeding technology //Trends in Plant Science. – 2023. – Т. 28. – №. 3. – С. 372-373.

### **ПОЛУЧЕНИЕ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ ГИБРИДОВ F1 ТОМАТА С КОМПЛЕКСОМ АЛЛЕЛЕЙ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИХ ПОВЫШЕННОЕ НАКОПЛЕНИЕ АНТОЦИАНОВ И КАРОТИНОИДОВ**

**Дрозд Е.В.<sup>1</sup>, Бабак О.Г.<sup>1</sup>, Некрашевич Н.А.<sup>1</sup>, Анисимова Н.В.<sup>1</sup>, Яцевич К.К.<sup>1</sup>,  
Пугачева И.Г.<sup>2</sup>, Добродькин М.М.<sup>2</sup>, Кильчевский А.В.<sup>1</sup>**

**1 – Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси (ИГЦ НАНБ), Минск 220072; E-mail: drozd.liza@bk.ru**

**2 – Белорусская государственная орденов Октябрьской Революции и Трудового Красного Знамени сельскохозяйственная академия (БГСХА), Горки 213410**

В настоящее время селекция направлена на создание продуктов питания, обладающих высокими антиоксидантными свойствами за счет высокого накопления биологически активных веществ, а именно каротиноидов и антоцианов. Для создания гибридов F<sub>1</sub> *Solanum lycopersicum* L., содержащих комплекс аллелей, детерминирующих хозяйственно-ценные признаки, применяется маркер-сопутствующая селекция (MAS – Marker Assisted Selection).

В Институте генетики и цитологии НАН Беларуси используются молекулярные маркеры к аллелям генов качества плодов, количества и состава каротиноидов (*t*, *B*, *og*, *og<sup>c</sup>*, *Del*, *hp-2<sup>dg</sup>*, *gf3*, *U*), антоцианов (*SlMYB12*, *Ant1*, *An2*, *Atv*), аллелям устойчивости к болезням и патогенам (*I2*, *I3*, *I7*, *Mil.2*, *Mi9*, *Cf2*, *Cf4*, *Cf5*, *Cf9*, *Ph2*, *Ph3*, *Ve*, *Tm1*, *Tm2*, *Ty2*, *Ty3*, *Rx4*, *Sw5*), а также к гену, определяющий тип роста главного побега (*Sp*) [1-2].

К настоящему моменту разработаны новые молекулярные маркеры для ДНК-типирования аллелей генов, участвующих в накоплении антоцианов: *Anthocyanin1*, *Ant1* (SCAR маркер *Ant1.1-FAM*), *Anthocyanin2*, *An2* (SCAR маркер *An2-AFT* (OM), SCAR маркер *An2-4*), *Atroviolacium*, *Atv* (SCAR маркер *Atv2*). Была подтверждена их эффективность на широком материале томата [3].

Целью данных исследований было создание гибридов F<sub>1</sub> томата на основе маркер-сопутствующей селекции и проведение двухлетних испытаний полученных гибридов с комплексом аллелей, определяющих повышенное содержание каротиноидов и антоцианов в вегетативных органах и плодах.

Отбор форм томата для гибридизации проводился по результатам ДНК-типирования образцов с использованием ПЦР-маркеров, созданных на основе секвенирования по Сэнгеру. Осуществлен поиск молекулярных маркеров следующих целевых аллелей генов качества плодов: *CRTISO*, *CYCB*, *DET1*, *GLK2*, *SIMyb12*, *R2R3Myb* (*Ant1*, *An2-Aft*), *R3Myb* (*atv*) и устойчивости к болезням: фузариозу (*I2*, *I3*, *I7*), кладоспориозу (*Cf2*, *Cf4*, *Cf5*, *Cf9*), мелойдогинозу (*Mil.2*), фитофторозу (*Ph2*, *Ph3*), вертициллезу (*Ve*), вирусу мозаики томата (*Tm2*), вирусу желтой курчавости листьев (*Ty2*, *Ty3*) [1-2, 4]. По результатам комплексного отбора по фенотипу (окраска плодов, биометрические признаки) и генотипу отобрана 29 линий для дальнейшего скрещивания.

В Институте генетики и цитологии НАН Беларуси и УО “БГСХА” в 2021 г. было создано 34 гибрида, а в 2022 г. было создано 6 гибридов с комплексом ценных аллелей генов качества плодов и устойчивости к патогенам. В рамках двухлетних испытаний гибридов (2022-2024 гг.) на Биологической опытной станции (БОС) ИГЦ и тепличном комплексе УО “БГСХА” проведены: фенотипическая оценка окраски вегетативных органов и плодов на накопление антоцианов и каротиноидов, учет биометрических признаков (высота растений, количество кистей, количества листьев между первой – второй, второй – третьей кистями, процент завязи на первых трех кистях), испытания по признакам урожайности (ранняя, товарная, общая урожайность, масса плода) в условиях защищенного грунта, а также биохимический анализ индивидуальных антоцианов при использовании метода ВЭЖХ и определение общего содержания антоцианов и каротиноидов при использовании спектрофотометрических методов в плодах полученных гибридов F<sub>1</sub> и их родительских форм.

По результатам статистического анализа двухлетних испытаний гибридов первого цикла скрещиваний по биометрическим признакам и признакам урожайности полученных гибридов F<sub>1</sub> на опытной станции Института генетики и цитологии НАН Беларуси и УО “БГСХА” лучшими по комплексу признаков, по отношению к лучшим по продуктивности гибридам-стандартам (Аламина, Старт, Евро) были 14 гибридов: №3Б, 4Б, 5Б, 8Б, 9Б, 12Б, 13Б, 16Б, 5, 7, 8, 10, 17, 19.

Согласно полученным результатам, ряд гибридов F<sub>1</sub> с комплексом аллелей повышенного содержания каротиноидов и антоцианов имели урожайность на уровне лучших по продуктивности гибридов-стандартов: ранняя урожайность варьировалась от 1,32 кг/м<sup>2</sup> у гибрида №3Б до 3,68 кг/м<sup>2</sup> у гибрида №12Б, товарная урожайность от 4,45 кг/м<sup>2</sup> у гибрида №3Б до 9,54 кг/м<sup>2</sup> у гибрида №10, общая урожайность от 4,81 кг/м<sup>2</sup> у гибрида №3Б до 10,25 кг/м<sup>2</sup> у гибрида №8 при массе плода от 44,17 г. у гибрида №7 до 89,17 г. у гибрида №19.

По результатам биохимического анализа, проведенного в 2023 г., ряд испытываемых гибридов при наличии аллелей генов, определяющих высокое накопление антоцианов и каротиноидов, показали высокое содержание антоцианов и каротиноидов в плодах, что усиливает их антиоксидантные свойства. Общее количество антоцианов в плодах лучших гибридов при этом варьировалось от 229,45 мг/100 г свежей кожуры у гибрида №8. до 1350,48 мг/100 г свежей кожуры у гибрида №13Б, характеризующийся наличием аллелей: *Ant1*, *An2-Aft*, *atv*. А по составу преобладали такие индивидуальные антоцианы как: дельфинидин рутинозид глюкозид, петунидин рутинозид глюкозид и мальвидин



рутинозид глюкозид в разных комбинациях. Общее количество каротинов в плодах отобранных по продуктивности гибридов варьировало от 3,33 мг/100 г сырой массы у гибрида №7 до 12,06 мг/100 г сырой массы у гибрида №19 с аллельным составом *b/b/y/y//Ant1/ant1//Myb75/An2-Aft//Atv/atv//u/U-del52*.

По результатам двухлетних испытаний показана возможность получения гибридов F<sub>1</sub> томата, которые характеризуются одновременно высокими качеством плодов и продуктивностью. Согласно результатам, проведенной комплексной оценки, в Государственную инспекцию по испытанию и охране сортов растений Республики Беларусь переданы 2 гибрида для включения в план закладки опытов на хозяйственную полезность с 2024 г.

#### **Список литературы:**

1. Технология маркер-сопутствующего отбора форм томата с высокими биохимическими и технологическими свойствами плодов: Методические рекомендации / Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь; Национальная академия наук Беларуси; Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси; сост.: О. Г. Бабак [и др.]. – Минск: Право и экономика, 2023. – 74 с.

2. Игнатова С. И., Бабак О. Г., Багирова С. Ф. Создание высококопиновых гибридов томата для теплиц с использованием традиционных методов селекции и молекулярных маркеров. Овощи России. – 2020 – №5, С.22-28.

3. Бабак, О. Г. Разработка молекулярных маркеров накопления антоцианов в плодах и изучение особенностей взаимодействия генов *Ant1*, *An2* и *Atv* у *Solanum lycopersicum* / О. Г. Бабак [и др.] // Молекулярная и прикладная генетика. – 2024. – Т. 36. – С. 7-23.

4. Бабак, О. Г. Создание и оценка гибридов F<sub>1</sub> томата с комплексом аллелей высокого накопления каротиноидов, антоцианов и устойчивости к болезням / О. Г. Бабак [и др.] // Материалы международной научной конференции «Селекция и генетика культурных растений – 18 октября 2023» / редкол.: В.В. Пыльнев [и др.]. – Москва: Издательство РГАУ-МСХА, 2023. – С. 269-273.

### **ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ТРИТИКАЛЕ В ОТНОШЕНИИ *PUCCINIA GRAMINIS* F. SP. *TRITICI***

**Дудникова К.Ю.<sup>1,2</sup>, Дудников М.В.<sup>1</sup>, Баранова О.А.<sup>3</sup>**

**1 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт  
сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва**

**2 – ФГБНУ «Федеральный научный центр биологической защиты растений»  
(ФГБНУ ФНЦБЗР)**

**3 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт  
защиты растений» (ФГБНУ ВИЗР), Санкт-Петербург**

**E-mail: saenkok1997@yandex.ru**

В современном сельском хозяйстве особое внимание уделяется повышению урожайности и снижению потерь от болезней растений. Одним из важных направлений исследований является изучение устойчивости сельскохозяйственных культур к различным патогенам, в том числе к стеблевой ржавчине. Яровая тритикале – это гибридная зерновая культура, полученная в результате скрещивания пшеницы и ржи. Она обладает рядом преимуществ перед другими зерновыми культурами, такими как высокая урожайность, устойчивость к неблагоприятным условиям выращивания. Однако, как и

другие зерновые культуры, яровая тритикале может быть поражена стеблевой ржавчиной – опасным заболеванием, вызываемым *Puccinia graminis*.

На сегодняшний день, некоторые сорта тритикале не уступают по урожайности и продуктивности пшенице. Однако, за счет амфидиплоидной природы тритикале и увеличения ее посевных площадей, отмечены частые случаи заражения ее болезнями, характерными для родительских форм: пшеницы и ржи. В частности, возбудителем стеблевой ржавчиной – *Puccinia graminis tritici* (*Pgt*), в некоторых регионах которых, зарегистрированы эпифитотийные вспышки развития болезни на тритикале [2]. Таким образом, отмечено немало работ, посвященных генетике резистентности тритикале и поиска среди ее форм доноров генов устойчивости.

В нашей работе мы изучали коллекцию сортов яровой тритикале, районированных в Волго-Вятском регионе, среди которых присутствовали сорта.

С применением молекулярных методов исследования и фитопатологической оценки было проведено изучение генетического потенциала яровой тритикале в отношении саратовской популяции *Pgt*. Проведение ПЦР-анализа осуществляли с использованием молекулярных маркеров, ассоциированных с генами *Sr50* (IB267) и *Sr31*(Scm9, iag95). Исследование выявило три сорта, районированных в Волго-Вятском регионе, которые были устойчивы к популяции *Pgt* и имели ампликоны, характерные для применяемых молекулярных маркеров: Тимур, Тимирязевская 42 и Ульяна.

Таким образом, при скрининге устойчивости яровой тритикале к *Pgt* было выявлено несколько сортов, устойчивых к возбудителю стеблевой ржавчины. Исследования продолжаются.

#### **Список литературы:**

1. Fao.org [Internet]. Food and Agriculture Organization of the United Nations [дата обращения: 09.08.2024]. Доступ по ссылке: <https://www.fao.org>

2. Bender С.М., Boshoff W.H.P., Pretorius Z.A. Infection and colonization of triticale by *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* // Can. J. Plant Pathol. 2021. Vol. 43. P. 198–210. DOI:10.1080/07060661.2021.1931453

## **ПРИМЕНЕНИЕ KASP МАРКЕРОВ В ИЗУЧЕНИИ МОРОЗОСТОЙКОСТИ У ПШЕНИЦЫ**

**Есина М.С.<sup>1</sup>, Черноок А.Г.<sup>2</sup>, Беспалова Л.А.<sup>3</sup>, Агаева Е.В.<sup>3</sup>, Дивашук М.Г.<sup>1</sup>**

**1 – ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва**

**2 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва; E-mail: [Irbis-sibr1@yandex.ru](mailto:Irbis-sibr1@yandex.ru)**

**3 – ФГБНУ «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко», Краснодар**

Пшеница является одной из основных промышленных сельскохозяйственных культур в мире и играет важную роль в обеспечении продовольственной безопасности многих стран. Озимая пшеница обладает хорошей урожайностью и более экологически пластична, чем яровая. В России площадь, занимаемая озимой мягкой пшеницей, составляет 16 тыс. га. Озимая мягкая пшеница нуждается в яровизации для перехода из вегетативной фазы развития в генеративную. На перезимовку озимой пшеницы влияют агротехнические приёмы, абиотические факторы среды, а также генетические особенности самих растений. Морозостойкость является одним из ключевых признаков, обеспечивающих хорошую перезимовку и высокую урожайность озимой пшеницы [1].

Промораживание растений при -18-20°C является классическим методом определения морозостойкости, однако он требует больших затрат времени. Устойчивость

к низким температурам — это сложный количественный признак. На сегодняшний день установлены два главных QTL морозостойкости пшеницы: FR1 и FR2. Молекулярные маркеры являются ценным инструментом для ускорения этапов селекционного процесса. Одним из новых методов является конкурентная аллель-специфичная ПЦР (KASP-PCR), позволяющая быстро и массово проводить генотипирование. На сегодняшний день известны несколько KASP маркеров, связанных с морозостойкостью мягкой пшеницы, например, маркеры ассоциированные с геном *Fr-A2* [2].

Целью данного исследования было изучение распределения аллелей гена морозостойкости *Fr-A2* в коллекции мягкой озимой пшеницы, предоставленной Беспаловой Л.А. из НЦЗ им. П.П. Лукьяненко (Краснодар) и определение образцов с лучшей морозостойкостью. Генотипирование растений мы проводили с использованием KASP технологии. По результатам выявлено, что в коллекции (168 образцов) большая часть растений имеют аллель резистентности (морозостойкости) 94 растения (55,95%), 43 растения (25,60%) гетерозиготны, 25 растений содержат не резистентный аллель, 6 растений гетерогенны (3,57%). Следующим этапом данного исследования будет оценка коллекции мягкой озимой пшеницы по другим маркерам морозостойкости и поиск связей между данными генотипирования и фактической полевой морозостойкостью растений. Полученные нами результаты могут быть полезны при выборе доноров морозостойкости среди изученных образцов как для мягкой, так и для твёрдой пшеницы и способствовать созданию новых сортов с лучшей морозостойкостью. Исследование выполнено при поддержке Российского Научного Фонда, № 24-16-00274.

#### **Список литературы:**

1. Wurschum T., C. Friedrich H. Longin, Hahn V., Tucker M.R. and Willmar L. Leiser. Copy number variations of CBF genes at the Fr-A2 locus are essential components of winter hardiness in wheat // The Plant Journal – 2017. – Т. 89. – №. 4. – С. 764-773.
2. Michel, Sebastian, et al. Improving and maintaining winter hardiness and frost tolerance in bread wheat by genomic selection // Frontiers in Plant Science – 2019 – 10:1195.

### **МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ВЫРАЩИВАНИЮ ТВЁРДОЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ СПИДБРИДИНГА (SPEED BREEDING) ДЛЯ РЕШЕНИЯ СЕЛЕКЦИОННЫХ ЗАДАЧ**

**Зеленина А.С.<sup>1,2</sup>, Яновский А.С.<sup>3</sup>, Бизякина Д.О.<sup>2</sup>, Нагамова В.М.<sup>2</sup>, Рубец В.С.<sup>2</sup>,  
Блинков А.О.<sup>2</sup>, Коробкова В.А.<sup>2</sup>, Юркина А.И.<sup>2</sup>, Беспалова Л.Ю.<sup>3</sup>,  
Карлов Г.И.<sup>2</sup>, Дивашук М.Г.<sup>2</sup>**

**1 – ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева» (ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева), Москва 127434; E-mail: info@rgau-msha.ru**

**2 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550;  
E-mail: biotech@iab.ac.ru**

**3 – ФГБНУ «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко» (ФГБНУ НЦЗ им. П.П. Лукьяненко), г. Краснодар 350012; E-mail: kniish@kniish.ru**

Высокие темпы развития современного мира требуют разработки новых подходов к решению задач продовольственной безопасности, основанной на создании новых высокоэффективных сортов. На помощь селекции всё чаще приходят технологии Speed Breeding, позволяющие ускорить селекционный процесс в несколько раз [1, 2]. Ускоренное создание исходного материала для селекции разрабатывается для ряда

сельскохозяйственных культур, в том числе и для такой ценной, как твёрдая пшеница. В данной работе кратко описаны методологические рекомендации по выращиванию твёрдой пшеницы в контролируемых условиях спидбридинга (Speed Breeding).

Началу селекционного процесса предшествует размножения гибридных образцов в условиях климокамеры. Для быстрого течения вегетации использую горшки объемом 500 мл, наполненные субстратом на основе верхового торфа. Корневая система быстро заполняет небольшой объём, в результате чего нуждается в регулярных подкормках.

До фазы выхода в трубку злак подкармливают удобрениями с повышенным содержанием азота, что позволяет ему активно набирать вегетативную массу. В период перехода растения к генеративному размножению упор делается на удобрения с повышенным содержанием фосфора и калия, дополненные микроэлементами. Подкормки осуществляются раз в неделю. В период колошения осуществляется изолирование колосьев. Рекомендуется 1 раз в неделю проводить внекорневые подкормки препаратом Силиплант.

Важными факторами, влияющим на гармоничное развитие растения является фотопериод, интенсивность и спектральный состав освещения, температура и влажность в климокамере. Для злаков устанавливается фотопериод 22 ч день/2 ч ночь с температурой +22<sup>0</sup>С днём и +17<sup>0</sup>С ночью. Для выращивания злаков наиболее желательным является спектральный состав, включающий весь диапазон видимого излучения (400 - 700 нМ) с интенсивностью 450-500 мкмоль/м<sup>2</sup>/с. Относительная влажность воздуха сохраняется на уровне 50-60% круглосуточно.

По истечении 14 дней с момента цветения последнего колоса растения перестают поливать, завязавшиеся семена созревают.

После обмолота, семена высеваются в кассеты на 96 ячеек с объемом ячейки 80 мл по системе односемянного отбора. Каждое семя гибридной комбинации даст начало отдельной линии, что позволит тщательно отобрать интересующие селекционера генотипы для испытания их в полевых условиях.

Для преодоления послеуборочного покоя, кассеты с семенами достаточно убрать в темную камеру при +5<sup>0</sup>С на три дня. Если образцы озимого образа жизни, после начала активного кущения их помещают на яровизацию при +5<sup>0</sup>С на срок 2 недели или более, так как продолжительность этого периода носит генетически опосредованный характер. Если данного периода не хватает для части растения, рекомендуется их перенести в отдельные кассеты для продолжения яровизации. На данном этапе существует возможность отбора генотип с различной длительностью вегетационного периода.

Частота подкормок для кассет увеличивается до 3 раз в неделю с сохранением особенностей химического состава для каждой фазы развития. На этом этапе также изолируются колосья для предотвращения спонтанного переопыления.

Разработанный протокол позволяет инициировать цветение в среднем у яровых генотипов на 30-55 сутки, а у озимых, в зависимости от длины яровизации, на 60-80 сутки.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ 24-16-00274

#### **Список литературы:**

aAlahmad S. et al. Speed breeding for multiple quantitative traits in durum wheat //Plant methods. – 2018. – Т. 14. – С. 1-15.

2. Samantara K. et al. Breeding more crops in less time: A perspective on speed breeding // Biology. – 2022. – Т. 11. – №. 2. – С. 275.

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА *PSY-A1* В КОЛЛЕКЦИИ СОРТОВ И ЛИНИЙ ТВЁРДОЙ ПШЕНИЦЫ НАЦИОНАЛЬНОГО ЦЕНТРА ЗЕРНА ИМЕНИ П.П. ЛУКЬЯНЕНКО

Коробкова В.А.<sup>1</sup>, Яновский А.С.<sup>2</sup>, Самарина М.А.<sup>1</sup>, Беспалова Л.А.<sup>2</sup>, Мудрова А.А.<sup>2</sup>, Архипов А.В.<sup>1</sup>, Ульянов Д.С.<sup>1</sup>, Карлов Г.И.<sup>1</sup>, Дивашук М.Г.<sup>1</sup>

1 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва 127550;

E-mail: [bowlingistka@gmail.com](mailto:bowlingistka@gmail.com)

2 – ФГБНУ «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко», Краснодар 350012

В селекционных программах по улучшению твёрдой пшеницы основными направлениями традиционно являются повышение адаптивности и продуктивности растений, а также улучшение показателей качества зерна и конечной продукции. Высокое содержание каротиноидных пигментов обеспечивает привлекательный желтый цвет семолины и конечных продуктов (макаронные изделия и крупы) и зависит от множества генов с аддитивными эффектами. Ген *Psy* контролирует активность фермента фитоенсинтазы. В настоящее время известно три паралога этого гена, вовлечённых в метаболический путь каротиноидных пигментов: *Psy-1*, *Psy-2* и *Psy-3*. Из них непосредственно на накопление каротиноидов в эндосперме оказывает влияние ген *Psy-1*, расположенный на 7 группе хромосом. На сегодняшний день имеются сообщения о двадцати и пятнадцати аллельных вариантах генов *Psy-A1* и *Psy-B1* соответственно, которые могут по-разному влиять на уровни накопления желтого пигмента в эндосперме твёрдой пшеницы [1].

В нашем исследовании с помощью молекулярных ПЦР-маркеров YP7A-2 [2] и YP7A [3] мы оценили распространение аллелей *Psy-A1a*, *Psy-A1b*, *Psy-A1c* в коллекции сортов и линий яровой и озимой твёрдой пшеницы, собранной и выращенной на полях НЦЗ имени П.П. Лукьяненко в Краснодаре. Примененные молекулярные маркеры показали эффективную аллельную дискриминацию у изучаемых образцов твердой пшеницы. Следующим этапом исследований будет оценка взаимосвязи между аллельным вариантом гена *Psy-A1* и фенотипическим проявлением – величиной индекса желтизны, имеющим сильную корреляцию с концентрацией желтых пигментов в зерне.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ№ 24-16-00274.

### Список литературы:

1. Vargas, V. H., Schulthess, A., Royo, C., Matus, I., & Schwember, A. R. (2016). Transcripts levels of Phytoene synthase 1 (*Psy-1*) are associated to semolina yellowness variation in durum wheat (*Triticum turgidum* L. ssp. durum). *Journal of Cereal Science*, 68, 155-163. doi:10.1016/j.jcs.2016.01.011
2. He, X. Y., He, Z. H., Ma, W., Appels, R., & Xia, X. C. (2009). Allelic variants of phytoene synthase 1 (*Psy1*) genes in Chinese and CIMMYT wheat cultivars and development of functional markers for flour colour. *Molecular Breeding*, 23(4), 553–563. doi:10.1007/s11032-009-9255-1
3. He, X. Y., Zhang, Y. L., He, Z. H., Wu, Y. P., Xiao, Y. G., Ma, C. X., & Xia, X. C. (2007). Characterization of phytoene synthase 1 gene (*Psy1*) located on common wheat chromosome 7A and development of a functional marker. *Theoretical and Applied Genetics*, 116(2), 213–221. doi:10.1007/s00122-007-0660-8

# УСКОРЕННАЯ ОЦЕНКА И ОТБОР ЦЕННЫХ ГЕНОТИПОВ КАРТОФЕЛЯ НА ОСНОВЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ

Королева А.К.<sup>1</sup>, Поливанова О.Б.<sup>1</sup>, Казаков О.Г.<sup>1</sup>

*1 – ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр картофеля имени А.Г. Лорха», 140051, Россия, Московская область, Люберецкий район, п. Красково, ул. Лорха, д. 23, литера «В»*

Для создания нового сорта картофеля необходимо вырастить и оценить десятки тысяч гибридных сеянцев, чтобы отобрать по комплексу хозяйственно-ценных признаков генотипы, способные составить конкуренцию в сортоиспытании уже известным сортам и превзойти их. При этом на выведение нового сорта картофеля в соответствии с традиционной схемой селекции требуется не менее 15 лет.

Одним из путей ускорения селекционного процесса является использование молекулярных маркеров на ранних этапах выращивания гибридов, что позволяет за счет раннего отбора выделившихся генотипов существенно сократить не только время необходимое для их оценки, но и общий объем выращивания. Можно предположить, что при использовании молекулярного скрининга по целевым признакам еще на стадии сеянцев, можно будет уменьшить количество высаживаемых генотипов в поле и повысить эффективность отбора, учитывая возможность вести оценку одновременно по нескольким маркерам.

В данной работе было проанализировано 394 гибрида картофеля 2 и 3-го года разного генетического происхождения, которые оценивали на наличие маркеров устойчивости к цистообразующей нематоды и вирусу Y.

Для проведения молекулярно-генетического анализа были использованы маркеры трех генов устойчивости к вирусу Y: Rychc186 (ген *Ry<sub>chc</sub>* *S. chacoense*), YES3A (ген *Ry<sub>sto</sub>* *S. stoloniferum*), RYSC3 (ген *Ry<sub>adg</sub>* *S. andigenum*). Также использовались два маркера гена H1, ассоциированного с устойчивостью к патотипу Ro1 цистообразующей нематоды - H1- N146 и H1-N195.

Выделение ДНК производилось из молодых листьев в соответствии с экспресс-методом (Hosaka, 2004). Идентификацию маркеров генов осуществляли методом мультиплексной ПЦР (Mori et al., 2011). Продукты ПЦР разделяли с помощью электрофореза в агарозном геле.

В исследуемых генотипах были отмечены различные сочетания применяемых молекулярных маркеров. 65 гибридов имели как минимум один маркер устойчивости к вирусу Y, 14 из которых характеризовались наличием маркера Rychc186. Самым распространенным маркером устойчивости к вирусу Y в изучаемой выборке был YES3A – он был отмечен у 44 образцов. Маркер RYSC3 был выявлен у 9 образцов. Только два образца несли по 2 маркера устойчивости к Y вирусу – гибрид, полученный от скрещивания сортов «Северное сияние» и «Розара» (маркеры Rychc и YES3A) и гибрид, полученный от скрещивания сортов «Барин» и «Терра роза» (маркеры Rychc186 и RYSC3). Эти гибриды также имели по два маркера гена H1 и, таким образом, несли 4 маркера из 5, используемых в работе.

Маркеры гена H1 устойчивости к нематоды были выявлены у 237 изучаемых гибридов. Большинство образцов (140 из 237) характеризовались наличием двух маркеров гена H1. Частота встречаемости маркеров H1-N195 и H1-N146 составила 54,3 % и 41,2 % соответственно.

Всего в выборке было выявлено 37 гибридов, несущих как минимум по одному маркеру генов устойчивости как к нематоды, так и к вирусу Y; 25 из них несут комплекс из трех ДНК-маркеров генов устойчивости.

Устойчивость к вирусу Y и нематоде важные хозяйственно-биологические признаки, наличие которых в генотипе сорта существенно повышает его адаптационный потенциал в поле, устойчивость в семеноводстве, способствует реализации потенциала большего по количеству и качеству урожая. В селекционном процессе при работе со многими различными генотипами и несколькими источниками устойчивости, использование маркеров, связанных с генами  $Ry_{chc}$ ,  $Ry_{sto}$ ,  $Ry_{adg}$  и H1, дает возможность отслеживать эти гены независимо от любых других генов устойчивости.

Конечно, определяющими хозяйственно-биологическую ценность генотипа в качестве кандидата в сорт будут признаки, связанные с урожайностью, качеством клубней, периодом созревания, пригодностью и отзывчивостью к производственной технологии возделывания, эффективный отбор по которым на основе молекулярных маркеров пока не проводится. Однако этот отбор целесообразно вести среди генотипов, которые характеризуются наличием маркеров генов устойчивости, так как поражение картофеля патогенами может привести к значительным потерям урожая и снижению качества конечной продукции. Выведение устойчивых сортов картофеля является одной из наиболее эффективных стратегий борьбы с его болезнями.

#### **Список литературы:**

1. Hosaka K. An easy, rapid, and inexpensive DNA extraction method, "one-minute DNA extraction," for PCR in potato. *Am. J. Potato Res.* 2004. 81:17–19
2. Mori K., Sakamoto Y., Mukojima N. et al. Development of a multiplex PCR method for simultaneous detection of diagnostic DNA markers of five disease and pest resistance genes in potato. *Euphytica* 2011. 180: 347–355

### **ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНОМА ВИРУСА БОЛЕЗНИ АУЕСКИ МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ**

**Коротин А.В., Сухер М.М., Крутько С.А., Кольцов А.Ю., Кольцова Г.С.**

***ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии»  
(ФГБНУ ФИЦВиМ), ул. Академика Бакулова, стр. 1,  
пос. Вольгинский, Владимирская обл., Россия, 601125.  
E-mail: info@ficvim.ru***

#### ***Аннотация.***

Болезнь Ауески (БА) или псевдобешенство, является острой вирусной инфекцией способной нанести огромный экономический ущерб свиноводческим хозяйствам. Возбудителем болезни является вирус болезни Ауески (*Suid herpesvirus 1*). В настоящее время лабораторная диагностика болезни преимущественно основана на выявлении ДНК вируса БА в биологическом материале методом ПЦР. В данном исследовании мы предложили новую методику идентификации ДНК различных штаммов и изолятов (вирулентных и аттенуированных) вируса болезни Ауески методом ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) на основе амплификации фрагмента гена U127, кодирующего основной мембранный гликопротеин gB. Основные характеристики предложенной методики, такие как диагностическая специфичность, диагностическая чувствительность, аналитическая чувствительность и воспроизводимость были определены в рамках данного исследования.

Целью наших исследований была разработка методики идентификации ДНК вируса болезни Ауески методом ПЦР-РВ. Предложенные олигонуклеотидные праймеры и зонд комплементарны последовательности гена U127, кодирующего один из основных

консервативных гликопротеинов gB, участвующего в проникновении вируса в клетку хозяина и активации NK-клеток.

#### ***Материалы и методы.***

В работе были использованы: 21 заведомо положительных образцов, содержащих ДНК вируса болезни Ауески, и 13 заведомо отрицательных образцов ДНК (гетерологичных вирусов и интанктных образцов). Для накопления вируса БА использовали культуру клеток РК-15. Инфекционную активность вируса БА определяли путем титрования в культуре клеток РК-15, титр вируса рассчитывали по методу Рида и Менча и выражали в TCID<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>. Выделение ДНК проводили с использованием набора «DNeasy blood and tissue kit» (Qiagen, Germany), согласно инструкции производителя. ПЦР в режиме реального времени проводили на амплификаторе CFX 96 (BioRad) с использованием олигонуклеотидных праймеров и зонда, комплементарных последовательности гена gB вируса БА.

#### ***Результаты исследования.***

На первом этапе работы были определены оптимальные условия ПЦР-РВ с использованием предложенных олигонуклеотидных праймеров и зонда, комплементарных последовательности гена UI27.

С целью определения возможности использования данной системы для выявления ДНК вирулентных и аттенуированных штаммов вируса БА в различных биологических образцах (культурах клеток, тканях и органах инфицированных животных) на следующем этапе были определены ее основные характеристики, такие как диагностическая специфичность, диагностическая чувствительность, аналитическая чувствительность и воспроизводимость. Для определения диагностической чувствительности и диагностической специфичности методики выявления генома вируса БА проводили исследование предварительно зашифрованных образцов биологического материала. Применение испытуемой методики позволило выявить 21 из 21 истинно положительных образцов (содержащих ДНК вируса БА), а при исследовании образцов, не содержащих ДНК вируса Ауески, положительные результаты отсутствовали. Таким образом, полученные нами данные позволяют сделать вывод о том, что предложенная методика выявления генома вируса БА, диагностическая чувствительность и специфичность которой составили 100%, является высоко специфичной и может быть использована для тестирования различных биологических образцов.

Аналитическую чувствительность методики выявления генома вируса БА определяли при исследовании последовательных десятикратных разведений плазмидной ДНК, содержащей фрагмент генома вируса БА, и десятикратных разведений биологического материала, содержащего вирус БА штамм «АС 21/07» с инфекционной активностью 10<sup>7</sup> TCID<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>. Пределом чувствительности считали последнее разведение, при котором регистрировали положительный результат. Значение аналитической чувствительности разработанной методики составило 2,5 копий ДНК вируса и 1 TCID<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>.

Для определения повторяемости проводили исследование четырех заведомо положительных образцов биологического материала одним исследователем в трех повторах на одном оборудовании (CFX 96, BioRad). Во всех заведомо положительных образцах во всех трех испытаниях выявлен геном вируса БА. При определении внутрилабораторной воспроизводимости, проводили исследование четырех заведомо положительных образцов биологического материала в трех повторах двумя операторами на разном оборудовании. Коэффициент вариации (CV) составил 0,01 – 0,06 %, что свидетельствует о низкой изменчивости и высокой повторяемости воспроизводимых результатов. Поскольку значения Ct всех контролей реакции (ОК, К-ПЦР, К+ПЦР) соответствовали критериям валидности, полученные результаты являются корректными.

Таким образом, нами была предложена методика выявления фрагмента гена UI27 вируса БА методом ПЦР-РВ, изучены ее характеристики, такие как такие как



диагностическая специфичность, диагностическая чувствительность, аналитическая чувствительность и воспроизводимость, и продемонстрирована возможность ее использования для лабораторной диагностики БА. В настоящий момент данная методика используется для изучения биологических свойств рекомбинантных штаммов вируса БА, а также для тестирования образцов патологического материала, поступающих для исследования в ФГБНУ ФИЦВиМ.

#### **Список литературы:**

1. H. Nauwynck, S. Glorieux, H. Favoreel, and M. Pensaert, "Cell biological and molecular characteristics of pseudorabies virus infections in cell cultures and in pigs with emphasis on the respiratory tract," *Veterinary Research*, vol. 38, no. 2, pp. 229–241, 2007

2. T. C. Mettenleiter, "Aujeszky's disease (pseudorabies) virus: the virus and molecular pathogenesis-state of the art, June 1999," *Veterinary Research*, vol. 31, no. 1, pp. 99– 115, 2000

### **МИКРОБИОМНЫЙ АНАЛИЗ ВОССТАНАВЛИВАЮЩИХСЯ ПОСЛЕ ВЫСЫХАНИЯ РАСТЕНИЙ И РИЗОСФЕРНЫХ ПОЧВ**

**Ляпина И.С.<sup>1</sup>, Чеботарь В.К.<sup>2</sup>, Фесенко И.А.**

*1 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (ИБХ РАН), 117997, ГСП-7, Москва В-437, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10;*

*2 – ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии" (ФГБНУ ВНИИСХМ), 196608,*

*Санкт-Петербург, ш. Подбельского, д. 3, Пушкин-8;*

*E-mail:fesigor@gmail.com*

Современное сельское хозяйство сталкивается с рядом проблем, вызванных изменением климата, ограниченностью ресурсов и деградацией земель [1]. Микробные сообщества, обитающие в ризосфере, филлосфере (листья и надземные части) и эндосфере, состоящие из бактерий, архей и грибов, помогают растениям в процессах их роста и жизнедеятельности и повышают устойчивость к патогенам и стрессам [2]. Несмотря на значительные достижения в изучении структуры микробиомов растений с использованием современных методов секвенирования, их функциональная роль в поддержании роста и устойчивости растений в стрессовых условиях остается недостаточно исследованной [3]. Изучение видового состава микробиома растений, устойчивых к стрессовым факторам внешней среды, таким как засуха, является важным этапом в создании синтетических микробных сообществ (SynCom), которые будут использоваться для повышения продуктивности растений.

Мы провели сравнительный анализ микробиомов стеблей, корней и ризосферной почвы засухоустойчивых и восстанавливающихся после высыхания растений (*Chenopodium album* L., *Alhagi pseudalhagi* (Bieb.) Fisch., *Agropyron desertorum* (Fisch. ex Link) Schult.), собранных в Нефтекумском районе Ставропольского края, для выявления различий в составе микробиоты. Библиотеки 16S РНК подготавливали с помощью секвенирования фрагмента V4 (515F – 806R). Анализ данных проводили с помощью пакета QIIME2. В ходе анализа были выявлены ключевые таксоны микроорганизмов, характерные для каждого типа образцов.

### **Список литературы:**

1. Compant, S., Samad, A., Faist, H., Sessitsch, A., A review on the plant microbiome: Ecology, functions, and emerging trends in microbial application. *Journal of Advanced Research* 2019, 19, 29–37.
2. Turner, T.R., James, E.K., Poole, P.S., The plant microbiome. *Genome Biology* 2013, 14, 209.
3. Santos, L.F., Olivares, F.L., Plant microbiome structure and benefits for sustainable agriculture. *Current Plant Biology* 2021, 26, 100198.

## **РАЗРАБОТКА МОЛЕКУЛЯРНОГО МАРКЕРА НА ГЕН *BT2* У *TRITICUM AESTIVUM* И ПОИСК АССОЦИАЦИЙ С ХОЗЯЙСТВЕННО ЦЕННЫМИ ПРИЗНАКАМИ**

**Мохов Т.Д., Кочешкова А.А., Баженов М.С., Меглицкая Я.С., Архипов А.В., Ермолаев А.С., Дивашук М.Г., Карлов Г.И.**

***ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550;  
E-mail: iab@iab.ac.ru***

Внесение азотных удобрений оказывает значительное влияние на продуктивность сельскохозяйственных культур. Это связано с тем, что азот является основным компонентом белков, нуклеотидов и гормонов. Однако, менее 50% азотного удобрения усваивается растениями. Избыточный азот оказывает негативное влияние на окружающую среду, в том числе за счет образования парниковых газов, вызывающих изменения климата. Для снижения антропологического воздействия на естественные экосистемы и повышения экономической эффективности использования азотных удобрений необходимо повышать эффективность использования азота (ЭИА) за счет детекции новых аллелей генов, ассоциированных с азотным обменом у растений и включение их в селекционный процесс.

Нами был исследован ген *BT2*, который является членом семейства каркасных белков Vric-a-Vrac/Tramtrack/Broad (ВТВ), которые играют важную роль в развитии мужского и женского гаметофитов у арабидопсиса [1]. Изменение экспрессии *BT2* меняет эффективность использования азота у растений арабидопсиса и риса [2]. Было выявлено, что гены *BT1/BT2* действуют как репрессоры генов высокоаффинного переносчика нитратов *NRT2.1* и *NRT2.4*. Таким образом, литературные данные указывают на то, что белки ВТВ являются частью механизма, который контролирует эффективное использование азота у однодольных и двудольных растений. В качестве материала для исследования нами был использован уникальный набор сортов отечественной селекции.

Целью данной работы является анализ гена *BT2*, участвующего в регуляции азотного метаболизма у растений и разработка информативных маркеров на этот ген.

Нами был произведен подбор специфичных праймеров для амплификации фрагментов гена *BT2* для последующего секвенирования с использованием последовательностей из геномных баз данных пшеницы. Секвенирование ампликонов трех гомеологов гена *BT2* у десяти генотипов пшеницы, контрастной по географическим и фенотипическим признакам было произведено с использованием бар-кодирования. При биоинформатическом анализе были выявлен полиморфизм в белок-кодирующей области гена *BT2-3A*. На данный полиморфизм был разработан молекулярный маркер. После валидации разработанного маркера была оценена коллекция рекомбинантных инбредных линий пшеницы из более чем 1000 образцов, родители которой обладали разными

аллелями гена *BT2-3A*. Данные линии оценены в полевых условиях в течении двух лет на хозяйственно-значимые признаки. По результатам двухфакторного дисперсионного анализа у образцов, несущих аллель *BT2-3Ab*, выявлено повышение массы зерна главного колоса и задержка колошения.

Работа выполнена при финансовой поддержке государственного задания № FGUM-2022-0001

#### **Список литературы:**

1. Large-scale, lineage-specific expansion of a bric-a-brac/tramtrack/broad complex ubiquitin-ligase gene family in rice / D. J. Gingerich, K. Hanada, S. H. Shiu, R. D. Vierstra // *Plant Cell*. – 2007. – Т. 19. – № 8. – С. 2329-2348.

2. Masclaux-Daubresse C. Exploring nitrogen remobilization for seed filling using natural variation in *Arabidopsis thaliana* / C. Masclaux-Daubresse, F. Chardon // *Journal of Experimental Botany*. – 2011. – Т. 62. – № 6. – С. 2131-2142.

### **ПРИМЕНЕНИЕ ДАЛЬНЕГО КРАСНОГО СПЕКТРА НА ЗЛАКАХ В УСЛОВИЯХ СПИДБРИДИНГА (SPEED BREEDING)**

**Нагамова В.М., Блинков А.О., Минькова Я.В., Свистунова Н.Ю., Лаппо А.А., Радзенице С., Кочешкова А.А., Дивашук М.Г.**

***ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550***

Селекционный процесс, направленный на создание новых сортов злаков с устойчивостью к различным абиотическим факторам, современным расам болезней и вредителей, а также обладающих улучшенными питательными свойствами зерна обладает значительным недостатком - его длительностью. С учетом проведения скрещиваний, селекционного отбора, создания чистых линий и их оценки, а также размножения перспективных сортов данный процесс может длиться до 15 лет. Однако ученые продолжают разрабатывать приёмы и различные методы по ускорению селекции, одним из действенных и новейших методов является ускоренная вегетация растений, получившая в англоязычной литературе название спидбридинг “Speed breeding”. Технология позволяет получать до 6 поколений яровых злаков за 12 месяцев, другими словами, чистые линии за один год. К преимуществам использования данной технологии относится простота и малозатратность методики, возможность выращивания растений в различных условиях: климатических камерах, теплицах, фитотронах. Спидбридинг включает в себя ряд подходов, влияющих на ускорение цветения, к которым относится длительный фотопериод 22/2 ч день/ночь, спектральный состав света, обязательно включающий участок видимого светового излучения и интенсивность света, равную 450-500 ммоль/м<sup>2</sup>/с, ограниченную площадь питания, строгий контроль температуры и удаление побегов кущения.

При ознакомлении и анализировании опубликованных протоколов по ускоренному выращиванию растений было обнаружено, что несмотря на воздействие дальнего красного спектра, как сильного индуктора фотоморфогенеза, его эффективность применения в условиях спидбридинга мало изучена. Нами было решено провести работу по изучению влияния дальнего красного спектра и оценить возможность его использования, как дополнительного фактора по ускорению зацветания злаковых культур, на примере яровых твердой пшеницы и тритикале.

Для оценки эффективности влияния дальнего красного в условиях спидбридинга экспериментальные растения выращивали в трёх различных условиях освещения: 1) под

белым спектром; 2) под белым спектром, дополненным дальним красным, где красный > дальнего красного; 3) под белым спектром, дополненным дальним красным, где дальний равен красному. Помимо различных вариантов спектрального состава выращивание твердой пшеницы и тритикале проводилось на двух видах субстрата, отличающихся обогащенностью питательными веществами. Нами были использованы смесь из торфа, чернозема, песка и вермикулита, в которой содержится достаточное количество всех необходимых для роста и развития растений питательных элементов, и в противовес ей, минеральная вата, обедненная на содержание питательных веществ в своем составе.

Была выявлена статистически значимая разница по скорости колошения и цветения как у твердой пшеницы, так и у тритикале, растущих под дальним красным спектром в равном соотношении с красным, данный результат сохранялся на обоих субстратах. В среднем у твердой пшеницы, растущей под белым спектром, дополненным дальним красным, где соотношение красного равно дальнему красному, колошение наступало раньше на 7,6 суток и цветение на 4,6 суток по сравнению с белым спектром. Тритикале, растущая под наибольшим количеством дальнего красного света зацвела в среднем на 3,2 суток быстрее, а колошение начиналось на 3 суток ранее, чем под белым спектром. Выявленная разница наступления цветения и колошения между белым и дальним красным спектрами, наблюдаемая у обоих злаковых культур, выращиваемых на различных субстратах, показывает эффективность применения дальнего красного освещения в условиях спидбридинга, где главной задачей стоит создание наиболее оптимальных условий для ускорения выращивания растений. Разница ускорения зацветания в одном поколении составляет в среднем 3,9 суток на обоих культурах, это значит, что суммарный эффект при выращивании последовательно шести поколений (количестве, способствующем в среднем получению выравненной линии) может достигать 12 суток.

Полученные нами данные продемонстрировали сильное влияние большого количества дальнего красного спектра не только на сроки наступления цветения и колошения, но также и на репродуктивную систему твердой пшеницы и тритикале. У растений, подвергшихся воздействию дальнего красного в равном соотношении с красным спектром, наблюдалось значительное уменьшение вегетативной массы и длины колоса, числа колосков на колос и числа зёрен на колос. Несмотря на это, масса 1000 зёрен оказалась значительно выше у тритикале, выращенной на обоих субстратах и у твердой пшеницы на почвенной смеси. Следует отметить, что не было обнаружено разницы во всхожести семян и регенерационных способностях изолированных зародышей *in vitro*, полученных от растений, выращенных под разным спектральным составом.

В то время, как выращивание растений под спектральным составом, где дальний красный равен красному показало значительное влияние на скорость вегетации и другие физиологические параметры у наблюдаемых злаковых культур, использование освещения, в котором красный спектр находится в большем соотношении с дальним красным практически не влияло на данные показатели у тритикале. Однако на твердой пшенице при использовании спектрального состава с преобладанием красного спектра наблюдалось ускорение цветения и колошения в сравнении с обычным белым спектром.

В ходе полученных нами результатов было обнаружена не только эффективность применения дальнего красного спектра в ускоренном выращивании злаков, но также и значимость соотношения данного спектра с красным. Система выращивания спидбридинг со спектральным составом, где красный примерно равен дальнему красному продемонстрировала высокую эффективность в улучшении показателя скорости зацветания тритикале и твердой пшеницы. Цветение тритикале инициировалось при данном спектре на 25-29 суток раньше, чем в условиях климатической камеры с 18/6 фотопериодом. Похожие результаты показала твердая пшеница, зацветание происходило на 31 суток раньше, чем в классических условиях выращивания климатической камеры.

Дальний красный, подключенный в количестве равном красному спектру, показал свое полезное воздействие на сроки выращивания злаковых культур и может стать

важным дополнением в технологии спидбридинг. При вышеуказанном стоит учитывать, что в работе, где главной целью является размножение знаков, дальний красный не стоит использовать в количестве равном красному спектру.

Работа выполнена в рамках государственного задания № 075-00495-24-03

## **СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФЕНОЛОГИЧЕСКИХ ФАЗ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM L.*) В УСЛОВИЯХ СПИДБРИДИНГА (SPEED BREEDING) И В ПОЛЕВЫХ ИСПЫТАНИЯХ**

**Наджодов Б.Б.<sup>1,2</sup>, Варданян Г.А.<sup>2</sup>, Маренкова А.Г.<sup>1,2</sup>, Деревянко А.А.<sup>1</sup>, Игонин В.Н.<sup>1</sup>, Рубец В.С.<sup>1</sup>, Пылнев В.В.<sup>1</sup>, Черноок А. Г.<sup>1</sup>, Кочешкова А.А.<sup>1</sup>, Дивашук М.Г.<sup>1</sup>**

**1 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва, 127550**

**2 – ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет - Московская сельскохозяйственная академия имени К. А. Тимирязева» (РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева), Москва, 127550  
E-mail: boburnajodov@gmail.com**

Пшеница (*Triticum aestivum L.*) является одной из ключевых продовольственных культур в мире, обеспечивая около 20% калорий и белка в рационе человека. В связи с изменяющимися климатическими условиями всё более актуальным становится создание новых адаптивных сортов, при помощи ускорения этапов селекционного процесса [1].

В условиях глобальных изменений климата и растущей потребности в повышении продовольственной безопасности, ускоренная селекция представляет собой важный инструмент для создания сельскохозяйственных культур, способных адаптироваться к новым экологическим вызовам и удовлетворять растущий спрос на продукцию растениеводства. Одним из наиболее перспективных и эффективных методов ускорения селекционных программ является технология спидбридинга (Speed Breeding=SB). Данная методика позволяет значительно сократить (ускорить) рост и развития растений, обеспечивая получение до шести поколений пшеницы (*Triticum aestivum L.*) в течение одного календарного года. Такой подход значительно ускоряет селекционный процесс, позволяя исследователям и селекционерам быстрее выводить новые сорта с улучшенными характеристиками, такими как устойчивость к засухе, болезням и неблагоприятным условиям окружающей среды. [2].

Цель данного исследования заключается в сравнительном анализе продолжительности фенологических фаз яровой пшеницы (*Triticum aestivum L.*) при выращивании в условиях спидбридинга (SB) и полевых условиях. Задача исследования заключалась в сравнении всех фенологических наблюдений, начиная с посева, появления всходов, колошения и заканчивая цветением. Эксперимент проводился в течение одного года: посев пшеницы в условиях спидбридинга (SB) был выполнен 21 февраля, а вегетационный период составил 45-55 дней, тогда как в полевых условиях посев был осуществлён 29 апреля, и вегетационный период длился 85-100 дней.

Материалом для исследования послужили 15 сортов яровой мягкой пшеницы различного эколого-географического происхождения. В качестве контрольного сорта выступал раннеспелый сорт Злата, созданы сотрудиниками ФИЦ «Немчиновка».

Яровая пшеница выращивалась как по методике Speed Breeding (SB), так и в полевых условиях. В обоих вариантах уборка проводилась в фазе полной спелости с последующим ручным обмолотом. Полевые испытания осуществлялись на опытной станции РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Площадь каждой делянки составляла 1 м<sup>2</sup>, с трёхкратной повторностью. Посев выполнялся кассетной сеялкой СКС-6–10, с

применением стандартных агротехнических приёмов для данной зоны. В ходе эксперимента отмечались все фенологические фазы: посев, всходы, колошение и цветение.

Сравнительный анализ по продолжительности фенологических фаз яровой пшеницы в условиях (SB) и полевых условиях показал значительные различия в скорости развития роста растений. В условиях (SB) всходы появлялись в среднем на 2-й день после посева, тогда как в полевых условиях всходы появились в 15 дней после посева. По дате колошения анализ показал, что сорта Ирень и Тризо оказались раннеспелыми, демонстрируя колошение на 34-й день в условиях (SB) в поле 49-56 дней, опережая контрольный сорт Злата (35 дней). По результатам наших исследований сорта Симбирцит и Тобольская отнесены к позднеспелым сортам, так как их колошение наступало на 45-й день, что на 10 дней позже контрольного сорта, в поле фаза колошения наступила в 51-56 день. Сравнительный анализ фаз колошения в полевых испытаниях подтвердил, что сорта Ирень и Злата являются раннеспелыми, демонстрируя колошение на 38-40-й день в (SB), в поле на 49-51 день. Самые позднеспелые сорта, такие как Тобольская, Фаворит и Алтайская Жница, достигли фазы колошения на 53-56 день (SB), что значительно превышает средние показатели наступления колошения в полевом опыте (49-51 дней).

Анализ фенологического наблюдения показал значительные различия между условиями (SB) и полевыми условиями. В условиях (SB) фаза цветения наступала в среднем через 38-43 дня после посева, в поле 49-56 день. Контрольный сорт Злата продемонстрировал цветение на 40-й день в спидбридинга (SB) и на 49-й день в поле, служа эталоном для оценки других сортов.

Сорта Агата, Саратовская 74 и Тулайковская 108 показали наиболее раннее цветение в условиях (SB), достигая этой фазы уже на 38-39 день, что на 1-2 дня опережает контрольный сорт Злата (SB), в поле фаза колошения наступила на 51 день. В противоположность раннеспелым, сорта Тобольская и Алтайская Жница показали более позднее наступление фазы цветения, достигая её на 43-й день в условиях спидбридинга (SB) и на 52-56 день в полевых условиях. Сорта Симбирцит, Тюменская 29, Обская 2, Фаворит, Гранни, Ирень и Учитель продемонстрировали промежуточные значения фаз цветения, подтверждая генетическое разнообразие и показывая потенциал для адаптации к различным условиям селекции. Например, сорт Ирень достиг фазы цветения на 39-й день в условиях (SB) и на 50-й день в поле, что позволяет ему сочетать раннее развитие с адаптивностью в полевых условиях.

На основании полученных данных можно сделать вывод, что сорта Агата, Саратовская 74, Тулайковская 108 являются наиболее раннеспелыми по фазам колошения и цветения как в условиях спидбридинга (Speed Breeding), так и в полевых условиях. Эти сорта рекомендуется использовать в селекционных программах, направленных на ускорение фенологических процессов, что позволяет сократить сроки вегетации и обеспечить высокую продуктивность пшеницы в различных условиях выращивания.

Наиболее раннеспелыми сортами по фазам колошения и цветения в условиях спидбридинга (Speed Breeding) и в полевых условиях оказались Агата, Саратовская 74 и Тюменская 29, что делает их перспективными для селекционных программ. В нашем исследовании метод спидбридинга (Speed Breeding) значительно ускорил фазу наступления цветения большинства сортов и увеличил количество поколений, получаемых за один год. Полученные данные актуальны для создания новых сортов и их быстрой адаптации к изменяющимся погодным условиям. Разнообразие реакций сортов на условия выращивания подчеркивает необходимость индивидуального подхода при их использовании в селекционном процессе, с учетом генетических особенностей конкретного генотипа.

Работа выполнена в рамках Государственного задания № 075-00495-24-03

### Список литературы:

1. Cha J.K., Park H., Choi C. et al. Acceleration of wheat breeding: enhancing efficiency and practical application of the speed breeding system. *Plant Methods*. 2023; 19:118.
2. Watson A., Ghosh S., Williams M.J. et al. Speed breeding is a powerful tool to accelerate crop research and breeding. *Nature Plants*. 2018; 4:23–29.

## ЭФФЕКТЫ ГЕТЕРОЛОГИЧНОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ (*MADS-box*, *YABBY*) И РЕДАКТИРОВАНИЯ ГЕНОВ МЕТАБОЛИЗМА (*PHO1a*, *PDS*) НА ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ ОНТОГЕНЕЗА *Nicotiana tabacum* и *Solanum tuberosum*

Нежданова А.В., Щенникова А.В.

*ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН), 119071  
Российская Федерация, г. Москва, Ленинский проспект, дом 33, строение 2  
E-mail: anna-negdanova@mail.ru*

Транскрипционным факторам (ТФ) *MADS-box* и *YABBY* принадлежат ключевые роли в регуляции роста, развития, стрессового ответа и доместикации растений. Эволюционная дупликация и неофункционализация генов *MADS-box* и *YABBY* считается одной из главных причин возникновения репродуктивной системы и морфологического разнообразия растений (Smaczniak et al., 2012). ТФ семейства *MADS-box* участвуют в регуляции путей метаболизма, включая биосинтез и деградацию углеводов и каротиноидов (Castelán-Muñoz et al., 2019). У сельскохозяйственных культур с активностью генов *YABBY* и *MADS-box* связывают проявление хозяйственно ценных признаков (Smaczniak et al., 2012; Castelán-Muñoz et al., 2019).

Наше исследование посвящено определению возможных функций исследуемых генов семейств *MADS-box* и *YABBY* у отдельных видов Пасленовых, Астровых и Вересковых в онтогенезе и стрессовом ответе растения.

В результате проведенной работы охарактеризована филогения семейств генов, кодирующих ТФ *MADS-box* и *YABBY* хризантемы, подсолнечника, томата, картофеля, табака и подбельника в сравнении с генами модельного вида *Arabidopsis thaliana*. Определено, к каким консервативным подсемействам относятся исследуемые гены. На основе этого были сделаны предположения об их функциях в растении и выбраны отдельные гены для дальнейшего изучения: *MADS-box* гены В-, С- и Е-активности, которые могут иметь роль в спецификации различных органов цветка, а также *YABBY* гены подсемейства *FILAMENTOUS FLOWER (FIL)*, которые могут определять асимметрию латеральных органов растения.

Для функциональной характеристики целевых генов получены и охарактеризованы трансгенные растения табака *Nicotiana tabacum* с их индивидуальной или совместной сверхэкспрессией. Результаты позволили предположить, что *MADS-box* гены могут отвечать за идентичность лепестков/тычинок (В-гены *CDM86* и *CDM115* хризантемы), пестика/семязачатков (С-гены *CDM37* (хризантема), *HAM45* и *HAM59* (подсолнечник)) и лепестков/гинецея (Е-гены *CDM44* (хризантема) и *SIMADS5* (томат)). Гены, гомологичные *FIL* (*MhyFIL1*, *MhyFIL3* (подбельник) и *CDM51* (хризантема)), могут участвовать в определении идентичности клеток абаксиальных поверхностей наземных латеральных органов растения. Полученные данные являются подтверждением консервативности процессов онтогенеза у видов высших растений, несмотря на морфологические различия.

Далее получены и охарактеризованы трансгенные растения табака и картофеля с редактированной (CRISPR-Cas9) последовательностью гена пластидной

крахмалфосфорилазы *PHO1a*, которая является уникальным ферментом, важным для деградации и синтеза крахмала. Также получены и охарактеризованы трансгенные растения табака с нокаутом гена *PDS*, кодирующего фитоиндесатуразу – второй фермент в пути биосинтеза каротиноидов. Таким образом, получены растения с измененным содержанием углеводов или каротиноидов. В обоих случаях растения испытывают стресс, так как и углеводы, и каротиноиды являются метаболитами, с помощью которых растение нейтрализует воздействие неблагоприятных факторов.

Изучение редактированных растений показало, что нокаут целевых генов приводит к таким нарушениям, как изменение гравитропизма корней, архитектуры надземной части и содержания крахмала (*PHO1a*), а также содержания хлорофиллов и каротиноидов (*PHO1a*, *PDS*), в том числе при воздействии низких положительных температур. Анализ экспрессии генов *MADS-box* подсемейств *SEP* и *FUL* (как генов, экспрессирующихся в норме и в вегетативной, и в репродуктивной части растения) выявил изменение уровня их транскриптов в сравнении с контролем, в том числе в ответ на холодовой стресс. Данные позволили предположить, что *MADS-box* гены участвуют в стрессовых реакциях растения путем регуляции транскрипции генов метаболизма углеводов и каротиноидов, и, следовательно, могут определять степень стрессоустойчивости растения.

Полученные нами данные перспективны для использования в биотехнологии и селекции агрокультур с целью улучшения качества урожая.

#### **Список литературы:**

1. Castelán-Muñoz N., Herrera J., Cajero-Sánchez W., et al. *MADS-box* genes are key components of genetic regulatory networks involved in abiotic stress and plastic developmental responses in plants //Frontiers in Plant Science. – 2019. – Т. 10. – С. 853.
2. Smaczniak C., Immink R. G. H., Angenent G. C., Kaufmann K. Developmental and evolutionary diversity of plant *MADS*-domain factors: insights from recent studies //Development. – 2012. – Т. 139. – №. 17. – С. 3081-3098.

### **ХЛОРОПЛАСТНЫЙ ГЕНОМ КРАСНОЙ СМОРОДИНЫ (*RIBES RUBRUM* L.)**

**Пикунова А.В.<sup>1</sup>, Горюнова С.В.<sup>2</sup>, Горюнов Д.В.<sup>3</sup>, Должикова М.А.<sup>1</sup>**

**1 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур» (ВНИИСПК), Орел, 302530, д.Жилина,**

**E-mail: info@vniispk.ru**

**2 – ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр имени А.Г. Лорха» (ФИЦ имени А.Г. Лорха), 140051, Красково, Россия, E-mail: coordinazia@mail.ru**

**3 – НИИ «Физико-Химической биологии имени А.Н. Белозерского» (НИИ ФХМ имени А.Н. Белозерского), 119992, Moscow, Russia, E-mail: fxb@genebee.msu.su**

Род смородина – включает такие хозяйственно важные культуры, как смородина черная, смородина красная, крыжовник. Красная смородина – зимостойкая, скороплодная культура, обладающая высокой потенциальной продуктивностью. Биологические особенности смородины красной позволяют возделывать эту культуру во всех регионах РФ [Голяева, 2015].

В нашей работе впервые в мире проведена сборка и аннотация хлоропластного генома красной смородины (сорт Белая Потапенко) на основании коротких чтений NGS. Сборку хлоропластного генома осуществляли с помощью программы NOVOPlasty (версия 4.3.1) [Dierckxsens et al., 2016]. Собранный пластом имел глубину покрытия 703х. По полученным нами данным хлоропластный геном смородины красной имеет длину 157,802 п.н. и типичное строение. Аннотацию генома проводили на основе сходства



последовательностей с полной последовательностью хлоропластного генома *Ribes odoratum* (MT081309) [Wang et al., 2021] в программном обеспечении Geneious версии 2023.0.2 [Kearse et al., 2012]. Было выполнено множественное выравнивание белковых последовательностей для ручной проверки аннотации генома. Аннотированные последовательности пластидного генома были отправлены в GenBank под номером доступа: OR227935. В хлоропластном геноме *R. rubrum* аннотировано 133 гена, включая 86 генов кодирующих протеины, 37 генов кодирующих транспортную РНК, 8 генов кодирующих рибосомальную РНК, и два псевдогена.

Кроме сборки и аннотации генома красной смородины проведено сравнение хлоропластных геномов и анализ адаптивной эволюции представителей рода смородина и семейства Камнеломковые (Saxifragales) а так же филогенетический анализ. Проведено сравнение 8 хлоропластных геномов видов рода смородина (*R. Rubrum*, *Ribes uva-crispa*, *Ribes glaciale*, *Ribes fasciculatum*, *Ribes roezlii*, *Ribes nigrum*, *Ribes odoratum*, and *Ribes nevadense*). Оно показало, что хлоропластный геном *R. rubrum* имеет высокую степень сходства с другими видами, особенно с *R. glaciale*. Пятьдесят шесть микросателлитных локусов были обнаружены и локализованы в хлоропластном геноме смородины красной с помощью инструмента GMATA версии 2.3 [Wang and Wang, 2016]. Филогенетический анализ основанный на данных о полных хлоропластных геномах 18 представителей семейства Saxifragales выявил, что все 8 видов *Ribes* группируются вместе, при этом *R. fasciculatum* вероятно является наиболее генетически отдаленным представителем рода смородина, среди анализируемых видов. Сравнение хлоропластных геномов 8 видов смородин показало, что все виды *Ribes* имеют примерно одинаковый набор генов, кодирующих белки, в последовательностях пластома. В роде *Ribes*, а также в других таксонах Saxifragales произошла множественная независимая псевдогенизация гена *usc1*. О функции данного гена идут дискуссии, тем не менее предполагается, что он играет важную роль в выживании клетки [de Vries, 2017].

Количество несинонимичных ( $K_a$ ) и синонимичных ( $K_s$ ) замен каждого гена оценивали с использованием Mega 11 [Tamura et al., 2021]. Консервация (Negative Selection (conservation)), наблюдалась для большинства генов как у группы *Ribes*, так и у Saxifragales. Положительный коэффициент отбора ( $K_a/K_s > 1$ , адаптивная эволюция) наблюдался только внутри группы смородин по генам *usc4* и *clpP*. Вместе с положительными сигналами отбора события псевдогенизации генов *usc1*, возможно, отражают то, что эволюция этих генов была важна для адаптации смородин.

Таким образом, наше исследование предоставляет геномные ресурсы и ценную информацию для дальнейшей разработки хлоропластных маркеров, а также вносит некоторые разъяснения в филогеномику рода *Ribes*.

«Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00160, <https://rscf.ru/project/23-26-00160/>.

### Список литературы:

1. Голяева ОД. Результаты 30-летней селекционной работы по красной смородине во Всероссийском НИИ селекции плодовых культур. Современное садоводство—Contemporary horticulture. 2015(2 (14)):54-68.
2. Dierckxsens, N.; Mardulyn, P.; Smits, G. NOVOPlasty: De novo assembly of organelle genomes from whole genome data. Nucleic Acids Res. 2016, 45, 18.
3. Wang, L.; Liang, J.; Sa, W.; Wang, L. Sequencing and comparative analysis of the chloroplast genome of *Ribes odoratum* provide insights for marker development and phylogenetics in *Ribes*. Physiol. Mol. Biol. Plants 2021, 27, 81–92. [CrossRef]
4. Kearse, M.; Moir, R.; Wilson, A.; Stones-Havas, S.; Cheung, M.; Sturrock, S.; Buxton, S.; Cooper, A.; Markowitz, S.; Duran, C.; et al. Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. Bioinformatics 2012, 28, 1647–1649

5. Wang, X.; Wang, L. GMATA: An Integrated Software Package for Genome-Scale SSR Mining, Marker Development and Viewing. *Front. Plant Sci.* 2016, 7, 1350.
6. de Vries J, Archibald JM, Gould SB. The carboxy terminus of YCF1 contains a motif conserved throughout > 500 Myr of streptophyte evolution. *Genome biology and evolution.* 2017 Feb;9(2):473-9.
7. Tamura, K.; Stecher, G.; Kumar, S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Mol. Biol. Evol.* 2021, 38, 3022–3027.

## **НАНОПОРОВОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ МУЛЬТИПЛЕКСНЫХ ПЦР-ПРОДУКТОВ С ПОМОЩЬЮ RAPID BARCODING KIT**

**Полховская Е. С.<sup>1</sup>, Груздев И.В.<sup>1</sup>, Москалёв Е.А.<sup>1</sup>, Киров И.В.<sup>1,2</sup>**

***1 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва, 127550***

***2 – Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», Московская область, г. Долгопрудный, 141701***

Сельскохозяйственное производство является одной из отраслей российской экономики, поскольку является не только инструментом обеспечения продовольственной безопасности, но и движущей силой экономического роста. При этом национальная экономика в последние годы постоянно ожидает увеличения сельскохозяйственного производства (Изряднова, 2016). Увеличение доли валового сбора сельской продукции обусловлено как технологическими изменениями, так и генетическими особенностями. Улучшение урожая посредством традиционной селекции растений может быть затруднено из-за сложных и длительных циклов развития, особенностей жизнеспособности и окружающей среды (Penna and Jain, 2017).

Наличие высокой генетической изменчивости и разнообразия в генофонде является элементарной необходимостью для генетического улучшения любых видов сельскохозяйственных культур. Традиционная селекция растений полностью зависит от наличия достаточных генетических вариаций для улучшения сельскохозяйственных культур (Chaudhary, 2019; Cassells, 2003). Однако варьирующиеся условия окружающей среды вносят свой вклад в развитие растений. Необходимость воспроизводить высокие и стабильные урожаи, а также обеспечивать устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам приводит к необходимости идентификации новых аллелей для экономически важных признаков в короткие сроки (Oladosu et al., 2016).

Однако идентификация новых необходимых генетических вариаций не всегда возможна с использованием рутинных методов молекулярной биологии, поскольку многие из них могут представлять собой структурные вариации в виде точковых мутаций. Ярким примером этого является устойчивость гибридов подсолнечника к гербицидам, вызванная мутациями в ключевых участках гена, кодирующего каталитическую субъединицу AHAS (Preston and Mallory-Smith, 2001; Tranel and Wright, 2002; Tan et al., 2005; Tan et al., 2006, Sala et al., 2012).

В последние годы усилился поиск подходящих и простых в использовании молекулярных инструментов для генотипирования широкого спектра сельскохозяйственных культур. Применение маркеров для поиска точечных мутаций является трудоёмким процессом, накладывающий существенные ограничения. Растет интерес к поиску инструментов, которые позволят одновременно обнаруживать множественные мутации в генах-мишенях за одну реакцию (Dimitrijević et al., 2017).

Поэтому в нашем исследовании мы применили целевое нанопоровое секвенирование генов пшеницы и подсолнечника с помощью Rapid Barcoding Kit (Oxford Nanopore Technologies, Оксфорд, Великобритания), благодаря которому идентифицировали структурные вариации в целевых регионах. Это послужило важным инструментом для простой и быстрой идентификации аллелей, повышая точность и эффективность выявления точечных мутаций.

Исследование проведено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (Госзадание № FGUM-2022-0005).

#### **Список литературы:**

1. Изряднова О. Раздел 4. Реальный сектор экономики //Российская экономика. Тенденции и перспективы. – 2016. – №. 38. – С. 163-271.
2. Penna S., Jain S. MMutant resources and mutagenomics in crop plants //Emirates Journal of Food & Agriculture (EJFA). – 2017. – Т. 29. – №. 9.
3. Chaudhary J., Deshmukh R., Sonah H. Mutagenesis approaches and their role in crop improvement //Plants. – 2019. – Т. 8. – №. 11. – С. 467.
4. Cassells A. C., Doyle B. M. Genetic engineering and mutation breeding for tolerance to abiotic and biotic stresses: science, technology and safety //Bulg J Plant Physiol Special. – 2003. – №. 52-82.
5. Oladosu Y. et al. Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement: a review //Biotechnology & Biotechnological Equipment. – 2016. – Т. 30. – №. 1. – С. 1-16.
6. Preston, C. and Mallory-Smith, C.A., 2001. Biochemical mechanisms, inheritance, and molecular genetics of herbicide resistance in weeds. In: S.B. Powles and D.L. Shaner (eds.), Herbicide Resistance and World Grains CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 23-60.
7. Tranel, P.J. and Wright, T.R., 2002. Resistance of weeds to AHAS inhibiting herbicides: what have we learned? Weed Science 50: 700–712
8. Tan, S., Evans, R.R., Dahmer, M.L., Singh, B.K. and Shaner, D.L., 2005. Imidazolinone tolerant crops: history, current status and future. Pesticide Management Science 61: 246-257.
9. Tan, S., Evans, R. and Singh, B., 2006. Herbicidal inhibitors of amino acid biosynthesis and herbicide-tolerant crops. Amino Acids 30(2):195-204.
10. Sala C. A. et al. Genetics and breeding of herbicide tolerance in sunflower //Helia. – 2012. – Т. 35. – №. 57. – С. 57-70.
11. Dimitrijević A. et al. Oleic acid variation and marker-assisted detection of Pervenets mutation in high-and low-oleic sunflower cross //Crop Breeding and Applied Biotechnology. – 2017. – Т. 17. – С. 235-241.

### **ИЗУЧЕНИЕ ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА УСКОРЕНИЕ ЯРОВИЗАЦИИ У ОСНОВНЫХ ОЗИМЫХ ЗЛАКОВ В УСЛОВИЯХ СПИДБРИДИНГ (SPEED BREEDING)**

**Радзенице С.<sup>1</sup>, Бизякина Д.О.<sup>1</sup>, Алкубеси М.<sup>1,2</sup>, Крупина А.Ю.<sup>1</sup>, Свистунова Н.Ю.<sup>1</sup>,  
Канунникова В.Ю.<sup>1</sup>, Блинков А.О.<sup>1</sup>, Кочешкова А.А.<sup>1</sup>, Дивашук М.Г.<sup>1</sup>**

**1 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт  
сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550;**

**E-mail: Radzen.lana@gmail.com**

**2 – ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет - МСХА  
имени К.А. Тимирязева» (ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева), Москва  
127434**

В настоящее время спидбридинг (Speed Breeding) является инновационным методом, который активно используется в прикладной и фундаментальной работе для полной вегетации яровых злаков за 60 дней. То есть позволяет проводить шесть поколений за 12 месяцев, другими словами, создавать чистые гомозиготные линии за год [1].

Ограничивающим фактором в быстром выращивании озимых культур является длительный процесс яровизации, требующий от 40 до 60 суток. Недавнее исследование показало, что достаточно 28 дней яровизации для раннего и дружного цветения озимых злаков при соблюдении таких факторов, как поддержание температуры 10°C, фотопериода 22 ч день/2 ч ночь и помещение семян на поверхности почвы [2]. Мы решили протестировать разработанный протокол на российских генотипах озимых злаков, а также исследовать ряд параметров, которые могут влиять на уменьшение срока яровизации российских генотипов озимых злаков.

В качестве экспериментальных озимых генотипов мы использовали твёрдую пшеницу (3596h56, Цель и Кордон), мягкую пшеницу (Московская 39, Каравай, Азотофиксирующая), и тритикале (Илия, Венец, Хлебороб). Выбирали генотипы с разной требовательностью к яровизации и чувствительностью к фотопериоду. Первым делом мы оценили фазу развития растений, пригодную для переноса в условия яровизации, среди протестированных фаз, таких как колеоптиль, 1-2 листа и кущение, самое быстрое колошение и цветение наблюдалось при помещении растений, достигших небольшого колеоптиля. Также мы оценили объём сосуда, который пригоден для быстрого цветения озимых. Среди протестированных объёмов, лучший результат показали кассеты с объёмом ячеек 110 мл. В таких кассетах кущение было ограничено и наблюдался быстрый выход в трубку. Также мы использовали для ускоренной яровизации изолированные зародыши и обнаружили, что они являются отличным объектом для яровизации. В ходе работы, по оценке таких факторов, как температура (5°C и 10°C), фотопериод (короткий 10 ч день/14 ч ночь и длинный 22 ч день/2 ч ночь) и интенсивность света (низкая 50 ммоль/м<sup>2</sup>/с и высокая 450 ммоль/м<sup>2</sup>/с). В результате лучшими факторами для большинства генотипов, отличающихся высокой требовательностью к длинной яровизации, стали короткий фотопериод, температура 5°C и низкая интенсивность света 50 ммоль/м<sup>2</sup>/с. Озимая мягкая пшеница сорта Московская 39 и Каравай, которые являются наиболее требовательные к длинной яровизации, в данных условиях яровизации зацветала на 96 - 107 сутки, а полный цикл вегетации составлял 116 -127 суток в зависимости от генотипа. У сортов тритикале Венец и Хлебороб, которые являются двуручками, оптимальными оказались условия, представленные в иностранном протоколе [1] и, включающие в себя фотопериодом 22 ч день/2 ч ночь, температуру 10°C, и высокую интенсивность света, все это способствовало быстрой яровизации. В среднем, данные сорта тритикале при выдерживании их в условиях яровизации 1 -2 недели, зацветали на наступает на 53 - 66 сутки после посева.

Таким образом, для сокращения периода яровизации озимых генотипов нами рекомендуется инкубирование проросших семян или зародышей при фотопериоде 10 ч день/ 14 ч ночь, температуре 5°C и низкая интенсивность света (50 ммоль/м<sup>2</sup>/с). Для двуручек оптимальными условиями яровизации, способствующими ускорению начала цветения являются: фотопериод 22 ч день/ 2 ч ночь, температуре 10°C и низкая интенсивность света (450 ммоль/м<sup>2</sup>/с).

Работа выполнена в рамках государственного задания № 075-00495-24-03.

### **Список литературы:**

1. Watson A. et al. Speed breeding is a powerful tool to accelerate crop research and breeding. 2018. 4(1): 23-29.
2. Cha J. K. et al. Speed vernalization to accelerate generation advance in winter cereal crops. 2022. 15(8): 1300-1309.

## **ВЛИЯНИЕ ФОТОПЕРИОДА НА СКОРОСТЬ РАЗВИТИЯ И УРОЖАЙНОСТЬ СОИ В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННОГО КЛИМАТА**

**Свистунова Н.Ю., Ромашкина С.И., Канунникова В.Ю., Злобнова Н.В,  
Кочешкова А.А., Дивашук М.Г., Карлов Г.И.**

**ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной  
биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), ул. Тимирязевская 42, Москва, Россия, 127550,  
E-mail: aloevera3006@gmail.com**

Соя (*Glycine max*) играет важнейшую роль в мировом сельском хозяйстве, являясь ценной культурой для получения белка и растительного масла, обеспечивая питательную ценность и решая такие проблемы, как ограниченное генетическое разнообразие и длительные селекционные циклы. Соя является теплолюбивой культурой короткого дня, а ускоренная селекция позволяет повысить эффективность и сократить срок получения новых сортов с улучшенными показателями урожайности и устойчивости к болезням [3]. Инновационные подходы, такие как ускоренная селекция (SB), позволяют сократить вегетационный период, ускорить наступление генеративной фазы развития и получение урожая растений [1]. Исследование проводилось с целью выявления оптимальных условий выращивания, которые сокращают вегетационный период и ускоряют созревание плодов. Сорты сои классифицируются на пять групп в зависимости от активной температуры, превышающей 10 °С. Ранние сорта имеют диапазон активной температуры от 1700 до 2000 °С, в то время как позднеспелые сорта характеризуются диапазоном от 2800 до 3000 °С. Вегетационный период сортов сои подразделяется на несколько категорий: ультраскороспелые (75-80 дней), очень скороспелые (81-90 дней), раннеспелые (91-110 дней), скороспелые (111-120 дней), среднеспелые (121-130 дней), среднепоздние (131-150 дней), позднеспелые (151-160 дней), очень позднеспелые (161-170 дней) и исключительно позднеспелые (> 170 дней). Фотопериод, или длина светового дня, представляет собой ключевой фактор, оказывающий значительное влияние на развитие растений, особенно сои, что является важным аспектом в определении скорости перехода к генеративной фазе и уровня урожайности [2].

Объектами исследования являлись 20 сортов сои ранней, среднеранней и среднепоздней групп спелости, а по типу роста они относились к детерминантным и индетерминантным. Исследование проводилось в условиях искусственного климата с двумя вариантами продолжительности светового дня – 8 часов и 22 часа. Это позволило оценить степень чувствительности каждой группы сортов к длине светового дня и его влияние на развитие растений сои.

В данной работе представлены результаты исследования влияния продолжительности светового дня на рост и развитие сортов сои. Исследование показало, что большинство изученных сортов проявляют выраженный фотопериодизм: на коротком световом дне переход к генеративной фазе происходит через 26 дней после посева, что на 20-22 дня раньше, чем в условиях длинного дня (47 дней). Это подтверждает данные о значительном влиянии фотопериода на развитие растений [1]. Некоторые сорта оказались нечувствительными к длине светового дня, и цветение у них наступало на 28-й день после посева независимо от фотопериода, что открывает возможности для их использования в

регионах с переменчивыми климатическими условиями. Интересный результат был получен у одного из раннеспелых сортов, где переход к фазе цветения наступал на 5-6 дней раньше на длинном дне по сравнению с коротким.

Результаты наших исследований показали, что длина светового дня оказывает сильное влияние не только на сроки наступления цветения, но и на весь период вегетации в целом. Короткий световой день ускорял наступление основных фенологических фаз: цветение, появление завязей, налив бобов и семян происходили раньше. Вегетационный период для сортов раннеспелой группы на коротком дне составил 85 дней, а для позднеспелых — 94 дня, благодаря сокращению периодов между фенофазами. В условиях длинного дня наблюдалось увеличение высоты растений и растянутый вегетационный период от 88 дней (для раннеспелых сортов) до 110 дней (для среднепоздних), что может быть преимуществом в условиях ограниченного времени для сбора урожая.

Урожайность сои тесно связана с элементами структуры урожая, такими как количество бобов и семян на растении, масса семян и количество семян в одном плоде. Выявлена прямая зависимость между длиной вегетационного периода и равномерностью созревания плодов сои от длины светового дня: у растений, выращенных на коротком дне, отмечен более короткий период вегетации и более одновременное созревание плодов.

В ходе эксперимента установлено, что при 22-часовом фотопериоде высота индетерминантных сортов достигала 170 см, тогда как у детерминантных сортов она составляла 70 см. При 8-часовом световом дне максимальная высота индетерминантных сортов не превышала 130 см, а у детерминантных — 50 см. Максимальное количество образовавшихся бобов на длинном дне составило 52 шт., а на коротком — 37 шт.

Выявлены сорта с различной степенью чувствительности к фотопериоду. Исследование подтвердило, что короткий день ускоряет цветение, тогда как длинный день приводит к более позднему переходу к генеративной фазе и увеличению высоты растений. Сорта с высокой чувствительностью к длине светового дня могут обеспечить более раннее цветение и высокий урожай в условиях оптимального освещения, в то время как сорта с низкой чувствительностью могут быть полезны в ситуациях, где стабильность важнее скорости роста. Понимание влияния фотопериода на рост и развитие сои может способствовать оптимизации стратегий выращивания и повышению эффективности производства сои в условиях искусственного климата.

Исследование выполнено при финансовой поддержке государственного задания №FGUM-2022-0007.

#### **Список литературы:**

1. Hou Z., Liu B., Kong F. Regulation of flowering and maturation in soybean Elsevier, 2022. С. 43–75.
2. Ort N. W. W. [и др.]. Photoperiod Affects Node Appearance Rate and Flowering in Early Maturing Soybean // *Plants*. 2022. № 7 (11). С. 871.
3. Staniak M., Szpunar-Krok E., Kocira A. Responses of Soybean to Selected Abiotic Stresses—Photoperiod, Temperature and Water // *Agriculture*. 2023. № 1 (13).
4. Using genomic information to improve soybean adaptability to climate change | *Journal of Experimental Botany* | Oxford Academic [Электронный ресурс]. URL: <https://academic.oup.com/jxb/article/68/8/1823/2628089?login=false> (дата обращения: 06.09.2024).

# СПОСОБ МАРКЕР-КОНТРОЛИРУЕМОГО ОТБОРА ПРОТИВ ГЕНА *Rg* С НИЗКОЙ ЭКСПРЕССИВНОСТЬЮ И ПЕНЕТРАНТНОСТЬЮ В СЕЛЕКЦИИ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Смирнова Н.В.<sup>1&\*</sup>, Михайлова А.С.<sup>1&</sup>, Швачко Н.А.<sup>1</sup>, Беспалова Л.А.<sup>2</sup>,  
Хлесткина Е.К.<sup>1</sup>

*& - авторы внесли равный вклад*

*1 – Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург 190000;*

*E-mail: secretary@vir.nw.ru*

*2 – ФГБНУ «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко»  
(ФГБНУ НЦЗ им. П.П. Лукьяненко), Краснодар 35001*

*E-mail: n.smirnova@vir.nw.ru*

Окраска колоса относится к признакам, по которым определяется однородность сортов пшеницы мягкой. У озимой пшеницы выявлена проблема - для сортов, которые создавались, как белоколосые, впоследствии в отдельные годы может обнаруживаться «неоднородность» (у отдельных растений сорта выявляется слабая красная окраска, тогда как другие растения - белоколосые). Известно, что признак контролируется гомеологичными локусами: *Rg-A1*, *Rg-B1* и *Rg-D1* (в хромосомах 1A, 1B и 1D, соответственно), на примере *Rg-B1* показано, что продукт гена - транскрипционный фактор из семейства *R2R3-MYB*. Мы предположили, что сорта с выявленной проблемой «неоднородности» по окраске все-таки генетически однородны, однако являются носителями ответственного за слабую красную окраску аллеля *Rg-A1b*. Для аллеля *Rg-A1b* в качестве диагностического маркера ранее был предложен микросателлитный маркер *Xgwm0136*, аллельный вариант которого, соответствующий длине 264 п.н., ассоциирован с присутствием *Rg-A1b*. Также было решено проверить аллельное состояние гена *Rg-B1*. Для этого мы разработали ILP-маркер с учетом характерной для этого аллельного варианта вставки транспозона во втором интроне и, оптимизировав, дополнительно применили ILP-маркер, выявляющий *Rg-B1b* по специфичной делеции в первом интроне. При помощи описанных диагностических маркеров и контрольных генотипов с известными комбинациями аллелей в локусах *Rg*, нами установлен генотип сортов Купава и Федор (у которых выявлялась «неоднородность» по окраске): *Rg-A1bRg-A1bRg-B1aRg-B1aRg-D1aRg-D1a*, где строчная буква «а» соответствует рецессивным аллелям. Выдвинутая гипотеза верна: каждый из двух проверенных сортов генетически однороден, но является носителем ответственного за слабую красную окраску аллеля *Rg-A1b*, отличающегося низкой экспрессивностью и низкой пенетрантностью, из-за чего и может ошибочно оцениваться по фенотипу как «неоднородный». Используемые маркеры можно предлагать, как способ маркер-контролируемого отбора с отбраковкой генотипов, *Rg-A1bRg-A1bRg-B1aRg-B1aRg-D1aRg-D1a* или гетерозиготных *Rg-A1bRg-AlaRg-B1aRg-B1aRg-D1aRg-D1a* на ранних этапах селекции сортов мягкой пшеницы. Работа выполнена в рамках исследовательской программы «Хлеба России».

## МЕТОД ИДЕНТИФИКАЦИИ СЕГМЕНТОВ ИНТРОГРЕССИЙ НА МИНИМАЛЬНОМ КОЛИЧЕСТВЕ РИДОВ

Съедина Н.М.<sup>1</sup>, Ермолаев А.С.<sup>1</sup>, Ульянов Д.С.<sup>1</sup>, Воронежская В.С.<sup>1,2</sup>, Васильев А.В.<sup>1</sup>,  
Тощакон С.В.<sup>3</sup>, Дивашук М.Г.<sup>1</sup>

1 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550;  
E-mail: biotech@iab.ac.ru

2 – ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Обнинск

3 – Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

Выявление сегментов интрогрессии в геноме позволяет ускорять селекционный процесс и более точно устанавливать наследственность у видов и популяций, определять вклад генома донора в геном реципиента. Для создания новых сортов важно как можно полнее выявлять генетические участки от доноров. Выявление интрогрессий при помощи геномной гибридизации *in situ* (GISH) является часто используемым методом, но он обладает низкой воспроизводимостью и меньшей разрешающей способностью. Эффективная методика идентификации сегментов интрогрессии должна быть адаптирована как для больших, так и для малых геномов, не быть слишком затратной и воспроизводимой, и иметь возможность реализации на большом количестве образцов, что достижимо на данных секвенирования GBS. Также для обеспечения большей воспроизводимости и снижения затрат метод должен позволять работать с минимальным количеством ридов для получения информативного результата.

В данном исследовании для ряда злаковых были секвенированы расщепляющиеся популяции потомков с поздних поколений самоопыления и их родители. Каждый из образцов потомков был секвенирован GBS на платформе Illumina в однократной повторности, родительские формы были секвенированы в пятикратной технической повторности. Было решено проводить поиск интрогрессий в соответствии с методикой, предложенной ранее для малярийных комаров рода *Anopheles* [1]. На растениях данный метод не применялся. Риды образцов выравнивались на референсные сборки. Картирование было проведено с использованием bowtie2 2.5.3 [2]. Для идентификации мутаций использовалась программа freebayes 1.3.7 [3]. Мультиаллельные SNP и инделы были удалены с помощью программы plink2 [4]. В результате фильтрации в образцах были отобраны биаллельные SNP таким образом, чтобы можно было установить их принадлежность к одному из родителей, неинформативные SNP удалялись из образцов, а информативные мультиаллельные SNP разбивались на биаллельные с помощью bcftools 1.20 [5]. Таким образом, всего в образцах линий потомков имелось 4 до 9 млн SNP. После всех этапов обработки у каждого образца было отобрано в среднем от 12 до 30 тыс SNP.

Геном культур был поделен на неперекрывающиеся окна, сегменты размером 1 Mbp, деревья строились только на основе тех окон, в которые попало не менее 10 SNPs. Для расчета деревьев в скользящем окне по геному был использован скрипт на R v4.3.1. SNP родителей и потомков каждом окне были использованы для построения филогенетического дерева. Принадлежность сегмента в геноме потомка к одному из родителей определялась филогенетической дистанцией между потомком и родителями. Участок генома внутри окна, принадлежность которого одному из родителей у потомков идентифицировалась однозначно, окрашивался в один цвет соответственно одному из родителей. Области, непокрытые ридами или окна, содержащие менее 10 SNPs, не окрашивались.



Полученные результаты были сопоставлены с данными о распределении интрогрессий у другой популяции Злаковых, где образцы потомков были секвенированы также с использованием GBS, но в пятикратной повторности, и покрытие образцов (глубина и равномерность) было лучше. Процент покрытия квалифицированными по происхождению от одного из родителей сегментами генома потомков в однократной повторности для каждого образца составлял 1-3%, в то время как у генома потомков в пятикратной повторности процент покрытия составлял 50%. При анализе окраски сегментов хромосом можно установить, что количество окрашенных окон у популяции, имеющих большее количество технических повторностей, заметно больше, что позволяет точнее определить принадлежность того или иного сегмента. Таким образом, можно заключить, что метод скользящего окна наиболее эффективен при наличии большего количества ридов и большего количества повторностей. Данные GBS могут быть использованы для определения принадлежности сегментов хромосом линий-потомков к одной из линий-родителей с высокой точностью. Данный алгоритм визуализации хромосом в дальнейшем может быть использован для поиска интрогрессий в других видах.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 24-16-00274.

### **Список литературы**

1. Mosquito genomics. Extensive introgression in a malaria vector species complex revealed by phylogenomics / M.C. Fontaine [et al.] // *Science* (New York, N.Y.). – 2015. – Vol. 347. – № 6217. – P. 1258524.
2. Scaling read aligners to hundreds of threads on general-purpose processors / B. Langmead [et al.] // *Bioinformatics*. – 2019. – Vol. 35. – № 3. – P. 421-432.
3. Garrison E. Haplotype-based variant detection from short-read sequencing / E. Garrison, G. Marth arXiv:1207.3907 [q-bio]. – arXiv, 2012.
4. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets / C.C. Chang [et al.] // *Gigascience*. – 2015. – Vol. 4. – № 1. – P. s13742-015.
5. Petr Danecek, James K Bonfield, Jennifer Liddle, John Marshall, Valeriu Ohan, Martin O Pollard, Andrew Whitwham, Thomas Keane, Shane A McCarthy, Robert M Davies, Heng Li, Twelve years of SAMtools and BCFtools, *GigaScience*, Volume 10, Issue 2, February 2021, giab008, <https://doi.org/10.1093/gigascience/giab008>

## **ПОИСК СОРТОВ-ДОНОРОВ ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ НА ХЛЕБОПЕКАРНЫЕ КАЧЕСТВА В УСЛОВИЯХ ОМСКОЙ ОБЛАСТИ**

**Урман М.В., Мухордова М.Е.**

**ФГБНУ «Омский аграрный научный центр», Омск 644012,  
E-mail: mv.urman1712@omgau.org**

Одна из важнейших отраслей сельского хозяйства в России – возделывание зерновых культур, преимущественно пшеницы. В Западно-Сибирском регионе посевные площади её составляют около 6 млн га и представлены в основном яровой мягкой пшеницей [1].

Белок составляет примерно от 8 до 20 % от общей массы зрелого зерна пшеницы. Глиадин и глютеин, являются основными компонентами глютена, которые составляют примерно 80–85 % белка пшеницы [2]. Глютеины в свою очередь делят на высокомолекулярные (HMW-GS) и низкомолекулярные (LMW-GS). Наибольший интерес представляют высокомолекулярные глютеины, которые определяются полиморфными

локусами Glu-A1, Glu-B1 и Glu-D1, расположенными на хромосомах первой гомеологической группы 1AL, 1BL и 1DL [3].

В целях насыщения «низкокачественных» генотипов сортов пшеницы предлагается использовать образцы, отличающиеся лучшей глютелиновой формулой. Помимо генетических особенностей сортов пшеницы на качество клейковины оказывают влияние условия возделывания и климатические показатели [3]. Сопоставление генотипических результатов на основе ПЦР-маркирования с физико-химическими методами определения качества зерна позволяет выявить потенциально ценные сортообразцы и значительно повысить эффективность селекционной работы [4].

Цель исследования – выявить сорта-доноры для селекции на хлебопекарные качества в условиях Омской области с помощью сочетания ПЦР-маркирования и физико-химических методов.

Исследования выполнены в 2021-2023 гг в ФГБНУ «Омский аграрный научный центр». Материалом для изучения служили 11 образцов яровой мягкой пшеницы: Омская 44, Омская 45, Омская крепость, Лидер 80, Уралосибирская 3, Лютесценс 46/10-17, Сигма 5, Лютесценс 36/17, Линия 410, Линия 446, Велют.

Вегетационный период 2021 г. характеризовался высокой изменчивостью метеопоказателей по месяцам и по декадам. ГТК вегетационного периода составил 0,58. В 2022 г. период вегетации пшеницы характеризовался повышенными значениями температуры воздуха и крайне неравномерным поступлением осадков, ГТК за май-август составил 1,02 (слабозасушливые условия). Характеризуя метеоусловия периода вегетации 2023 г., можно отметить понижение температуры воздуха с середины до конца июня и дальнейшее ее повышение на протяжении остального летнего сезона. В начале лета наблюдались условия с недостаточным увлажнением (80 % от нормы), а в середине вегетационного периода они превышали среднемноголетние значения (ГТК=0,78).

Показатели, полученные физико-химическими методами, определяли в лаборатории качества зерна. Содержание белка в зерне определяли на приборе Инфра Люм ФТ - 12 с просыпным модулем. Количество и качество клейковины в зерне изучали по ГОСТ Р 54478-2011 с отмывкой клейковины механизированным методом, качество клейковины оценивали и по показателю индекс глютена (ГОСТ ISO 21415-2-2019 Часть 2), а также параметрам SDS седиментации. Растяжимость и эластичность сырой клейковины изучали на приборе Глютограф Е.

Для идентификации субъединиц генов глютелина использовались методы молекулярной диагностики. Пробоподготовка образцов осуществлялась при помощи гомогенизатора TissueLyser LT. Геномная ДНК выделялась из 3-х дневных проростков зерен пшеницы с помощью готового набора реактивов «Экстрэн 3» (ООО «Синтол», Россия). Полимеразную цепную реакцию проводили с использованием праймеров к SSR-маркеру генов Glu A1 и Glu D1, разработанных Liu S. с соавторами [5], Glu B1 – с помощью праймеров, разработанных W. Ma с соавторами [6]. Для проведения ПЦР был использован набор БиоМастер HS-Тaq ПЦР-Color (2x). Амплифицированные фрагменты ДНК фракционировали методом горизонтального электрофореза в 1,5 % агарозном геле в 1×TBE буфере в течение 60 минут при напряжении в 130В. Гель окрашивали с помощью интеркалирующего агента Ethidium bromide. Результаты детектированы в системе гелевой документации GelDoc XR+ с помощью ПО Bio-Rad ImageLab5.1.

Глютелиновый индекс (Glu-score) оценивали по модифицированной методике в баллах [7].

В результате молекулярно-генетической оценки на предмет идентификации генотипов по аллельным вариантам Glu1-локусов HMW субъединиц глютелинов установлено, что 5 проанализированных сортообразцов яровой мягкой пшеницы имели максимальное количество баллов (10), а именно Омская 44, Омская крепость, Уралосибирская 3, Лютесценс 36/17 и Велют. Сочетание высокомолекулярных субъединиц глютелинов (2\*) + (7+8) + (5+10) свидетельствует о том, что данные образцы

могут являться донорами высокого качества. Другие наборы субъединиц характеризуются недостаточным эффектом в отношении хлебопекарных свойств и имеют более низкую оценку. Четыре образца – Лидер 80, Лютесценс 46/10-17, Сигма 5 и Линия 410 получили 8 баллов, а минимальные баллы имели два сорта Омская 45 и Линия 446.

На основании сопоставления результатов молекулярной диагностики и физико-химических методов, выявлены сортообразцы, обладающие комплексным показателем качества. Такими сортообразцами являются Омская 44, Омская крепость и Уралосибирская 3. Сорт Омская 45 имеет в генетическом профиле гетерозиготное состояние локуса Glu-D1, которое не проявляет максимальную экспрессию. Несмотря на высокий Glu-1 – балл (10 баллов), сортообразец Лютесценс 36/17 отличается средними показателями качества зерна, а Велют – низкими. По-видимому это связано с влиянием климатических условий зоны Омской области, а также данный эффект может регулироваться агротехническими факторами. В исследованиях российских и зарубежных авторов было установлено, что гены, ответственные за синтез высокомолекулярных субъединиц глютеинов, могут быть неактивны из-за повреждения мобильными элементами или стоп-кодонами [8]. В нашем исследовании у сортов Омская 44, Омская крепость и Уралосибирская 3 эти гены активны, а у сортообразца Велют они «молчат», поэтому рекомендуется данный образец исследовать в других зонах произрастания.

Считаем, что интеграция молекулярно-генетических методов в селекции на хлебопекарные качества позволяет целенаправленно подбирать родительские формы для скрещивания. Это дает возможность создавать генотипы с желаемыми свойствами. Сорта Омская 44, Омская крепость и Уралосибирская 3 целесообразно использовать как сорта-доноры для дальнейшей селекции на хлебопекарные качества.

#### **Список литературы:**

1. Мухордова М. Е., Белан И. А., Россеева Л. П. Использование молекулярных маркеров в селекции пшеницы мягкой яровой в Омском аграрном научном центре // Достижения науки и техники АПК. 2022. Т. 36, № 6. С. 5-10. doi: 10.53859/02352451\_2022\_36\_6\_5.
2. High-Molecular-Weight Glutenin Subunits: Genetics, Structures, and Relation to End Use Qualities / Y. Li, J. Fu, Q. Shen, D. Yang // Int. J. Mol. Sci. –2021. Vol. 22. P. 184. doi: 10.3390/ijms22010184.
3. Обухова Л. В., Шумный В. К. Состав высокомолекулярных субъединиц глютеина у сортов и перспективных линий мягкой пшеницы // Генетика. 2018. Т. 54. № 3. С. 316-325. doi: 10.7868/S0016675818030049.
4. Применение нового молекулярного маркера и метода SDS-PAGE для установления взаимосвязи аллельного состава генов глютеинов с качественными показателями зерна тритикале / А. С. Пырсигов, С. В. Сыксин, Н. А. Милукова и др. // Кормопроизводство. 2022. № 9. С. 27-33.
5. Liu S., Chao S., Anderson J. A. New DNA markers for high molecular weight glutenin subunits in wheat // Theoretical and Applied Genetics. 2008. Vol. 118. No.1. P. 177–183. doi: 10.1007/s00122-008-0886-0.
6. Ma W., Zhang W., Gale K. R. Multiplex-PCR typing of high molecular weight glutenin alleles in wheat // Euphytica. 2003. Vol. 134. No.1. P. 51–60. doi: 10.1023/a:1026191918704
7. Lukow O. M., Payne P. I., Tkachuk R. The HMW glutenin subunit composition of Canadian wheat cultivars and their association with bread-making quality // J. Sci. Food Agric. 1989. Vol. 46. P. 451–460.
8. Обухова Л. В. Высокомолекулярные субъединицы глютеина у образцов пшениц – доноров иммунитета к грибным инфекциям // Информационный вестник ВОГиС. 2008. Т. 12. № 4. С. 734-739. 19.

## ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОТОКОЛА VIGS ДЛЯ *CAPSICUM ANNUM* L.

Шингалиев А.С.<sup>1</sup>, Енгальчева И.А.<sup>2</sup>, Власова А.В.<sup>1</sup>, Дудников М. В.<sup>1</sup>, Киров И.В.<sup>1</sup>.

*1– Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной  
биотехнологии», Москва 127550*

*2– Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Федеральный научный центр овощеводства», Московская обл. 143080*

Перец является одной из основных овощных культур и широко используется во всём мире. Как и любая культура, перец сильно поражается патогенами, что сильно снижает урожайность и товарные качества этой культуры. Одним из основных патогенов, паразитирующих на перце являются грибы рода *Fusarium*. Грибы данного рода в зависимости от способа проникновения в растение могут вызывать сосудистое увядание, пятнистости листьев и гнили плодов [1]. Для поиска генов устойчивости и восприимчивости может быть использован метод функциональной геномики – вирус индуцированный сайленсинг генов (VIGS). Используя специально сконструированные вирусные векторы, можно в короткие сроки целенаправленно подавить выбранный ген растения, и оценить его вклад в процесс онтогенеза. [2, 3].

Ранее мы провели валидацию протокола VIGS (на примере гена PDS, участок которого был заклонирован в вектор TRV) на семенах и проростках перца сортов Здоровье и Сладёна соответственно. Однако в первом случае эффективность составила 0% и во втором 5%.

В этом эксперименте мы провели инфильтрацию листьев 30 растений каждого сорта перца в фазе 3-ёх настоящих листьев. В качестве вектора использовался TRV1+TRV2-NbPDS (вставка частичной последовательности фитоендесауразы табака). Дополнительно каждый сорт был разделён на три варианта обработки агробактерией, несущей рекомбинантный вектор, с градацией оптической плотности на OD600 – 0,5; 0,8; и 1.

В результате эксперимента удалось добиться подавления гена PDS в зависимости от варианта обработки от 50% до 90%. Наибольшее подавление оказалось у растений с вариантом обработки OD600 – 0,5. Примечательно что наихудший результат показал вариант обработки OD600 - 0,8; мы приходим к выводу, что это связано с тем, как бережно проходило закалывание листьев. В дальнейшей работе планируется провести подавление целевых генов перца, которые могут быть вовлечены в процесс защиты и иммунного ответа на патоген.

### Список литературы:

1. Irina Engalycheva et al. *Fusarium Species Causing Pepper Wilt in Russia: Molecular Identification and Pathogenicity* // *Microorganisms*. – 2024. – Т.12. – №2. С. 343.
2. Fang-I HO et al. *A tobacco rattle virus-induced gene silencing system for a soil-borne vascular pathogen Ralstonia solanacearum* // *Botanical Studies*. – 2009. – Т. 50. – С. 413-424.
3. Burch-Smith T. M. et al. *Applications and advantages of virus-induced gene silencing for gene function studies in plants* // *The Plant Journal*. – 2004. – Т. 39. – №. 5. – С. 734-746.

**СЕКЦИЯ  
«ГЕНОМНОЕ РЕДАКТИРОВАНИЕ И ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ»**

## **HARNESSING CRISPR/CAS9 FOR ENHANCED ABIOTIC STRESS TOLERANCE IN CROPS: FUTURE RESEARCH DIRECTIONS**

**Turaev O.S.<sup>1,2</sup>, Abdirahimova S.Sh.<sup>1</sup>, Erjigitov D.Sh.<sup>2</sup>, Dolimov A.A.<sup>2</sup>, Khasanov Kh.M.<sup>1</sup>, Ziyaev Z.M.<sup>1</sup>**

*1 – Research Institute of Plant Genetic Resources (RIPGR), 111202,  
Tashkent region, Uzbekistan*

*E-mail: zafaruzripi@gmail.com*

*2 – Institute of Genetics and Plant Experimental Biology (IGPEB), 111226,  
Tashkent region, Uzbekistan*

*E-mail: igebr\_anruz@mail.ru*

The escalating threat of climate change and the resulting abiotic stresses, such as drought, salinity, and extreme temperatures, pose a significant challenge to global food security. Traditional breeding methods, although valuable, have limitations in terms of speed and precision in introducing specific traits for stress tolerance. CRISPR/Cas9 gene-editing technology presents a groundbreaking solution, offering the ability to precisely modify crop genomes to enhance their resilience to abiotic stresses. This thesis explores the potential of CRISPR/Cas9 in improving abiotic stress tolerance in crops and outlines future research directions aimed at unlocking its full potential.

The CRISPR/Cas9 system acts as a programmable molecular tool, allowing scientists to make targeted modifications at specific locations within the genome. This targeted ability can introduce mutations that disrupt gene function, modify gene expression, or even insert new genetic material. In the context of abiotic stress tolerance, CRISPR/Cas9 enables:

- **Knock-out Genes:** Disabling genes that negatively impact stress tolerance.
- **Modify Gene Expression:** Adjusting regulatory elements of genes to enhance their expression under stress conditions
- **Introduce New Genes:** Inserting genes from other species known to confer stress tolerance

Future Research Directions:

While significant advancements have been made, further research is necessary to fully unlock the potential of CRISPR/Cas9 in enhancing abiotic stress tolerance in crops. Future studies should focus on:

- **Identifying and Targeting Key Genes:** Employ advanced genomic and bioinformatic tools to identify and characterize genes associated with abiotic stress tolerance in various crops. Utilize CRISPR/Cas9 to precisely target and modify these genes to enhance stress tolerance traits.
- **Enhancing Physiological and Biochemical Mechanisms:** Investigate the use of CRISPR/Cas9 to modify crop physiological and biochemical pathways to improve water-use efficiency, nutrient uptake, and antioxidant production under stress conditions. Develop crops with improved root architecture and photosynthetic efficiency using CRISPR/Cas9.
- **Field Trials and Agronomic Evaluation:** Conduct extensive field trials to evaluate the performance of gene-edited crops under various abiotic stress conditions. Assess the agronomic performance, yield stability, and quality traits of gene-edited crops compared to conventional varieties.

We have recently started research on improving salt tolerance in wolfberry (*Lycium ruthenicum*), barley (*Hordeum vulgare*), maize (*Zea mays*), and guar (*Cyamopsis tetragonoloba*) plants using CRISPR/Cas9 technology. We have designed gRNAs for each targeted gene. Currently, we are optimizing regeneration protocols and have successfully achieved regeneration from wolfberry.

CRISPR/Cas9 gene-editing technology holds immense promise for revolutionizing agriculture by developing crops with improved abiotic stress tolerance. The future research directions outlined in this thesis aim to contribute to this endeavor, leading to increased agricultural productivity and ensuring food security in the face of climate change. While the potential of CRISPR/Cas9 is vast, it is important to conduct thorough risk assessments and address any ethical concerns associated with gene-edited crops. Additionally, establishing regulatory frameworks and ensuring transparency will be crucial for the responsible and sustainable deployment of this technology.

#### References:

1. Kumar M, Prusty MR, Pandey MK, Singh PK, Bohra A, Guo B and Varshney RK (2023) Application of CRISPR/Cas9-mediated gene editing for abiotic stress management in crop plants. *Front. Plant Sci.* 14:1157678. doi: 10.3389/fpls.2023.1157678
2. Shan, Q., Wang, Y., Li, J., Zhang, Y., Chen, K., Liang, Z., et al. (2013). Targeted genome modification of crop plants using a CRISPR-cas system. *Nat. Biotechnol.* 31, 686–688. doi: 10.1038/nbt.2650
3. Zafar, S. A., Zaidi, S. S. E. A., Gaba, Y., Singla-Pareek, S. L., Dhankher, O. P., Li, X., et al. (2020). Engineering abiotic stress tolerance via CRISPR/Cas-mediated genome editing. *J. Exp. Bot.* 71, 470–9. doi: 10.1093/jxb/erz476
4. Zhang, Y., Liang, Z., Zong, Y., Wang, Y., Liu, J., Chen, K., et al. (2016a). Efficient and transgene-free genome editing in wheat through transient expression of CRISPR/Cas9 DNA or RNA. *Nat. Commun.* 7, 12617. doi: 10.1038/ncomms12617

## **АГРОБАКТЕРИАЛЬНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ У РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ РЫЖИКА ПОСЕВНОГО С ПОМОЩЬЮ ПОДХОДА FLORAL DIP**

**Веселкин А.А.**

***ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт  
сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва***

Рыжик посевной (*Camelina sativa*) – однолетнее травянистое растение сем. *Brassicaceae*. Семена содержат до 42% масла, которое традиционно используется в пищу. Рыжик отличается коротким вегетационным периодом (90 дней), а также способностью давать урожай при неблагоприятных условиях для других культурных растений (бедные почвы, засуха, заморозки и т.д.) Хотя раньше рыжик широко культивировался особенно в Северной Европе и России, в прошлом столетии он был повсеместно забыт, вытесненный другими масличными культурами. По этой причине в XX веке рыжик мало подвергался селекционной работе. Однако XXI веке рыжиковое масло стало использоваться для создания биотоплива второго поколения (преимущественно авиакеросина). Это привело к возобновлению интереса к культуре среди производителей и селекционеров. В России за последние 15 лет были созданы 15 новых сортов рыжика. Но селекционная работа осложняется низкой генетической вариабельностью и гексаплоидностью вида. Эти трудности помогают преодолеть современные методы геномной инженерии, в частности CRISPR-Cas9 редактирование генома (Ghidoli et al., 2023). Однако для успешного геномного редактирования необходима эффективная трансформация, поэтому целью данного исследования был подбор условий для эффективного трансгеноза нескольких перспективных отечественных сортов рыжика.

При планировании эксперимента за основу был взят протокол агробактериальной трансформации методом погружения соцветий (floral dip), который показал свою

эффективность на *Arabidopsis thaliana*, близком родственнике *C. sativa* (Clough and Bent 1998). Ключевыми параметрами этого подхода: штамм *Agrobacterium tumefaciens*, концентрация органосиликонового ПАВ Silwet® L-77, который обеспечивает проникновение агробактерий в ткани растения, и время экспозиции. В некоторых случаях для увеличения эффективности могут применяться повторение процедуры 2-3 раза с интервалом в неделю и использование вакуума (Lee, K.-R., et al., 2024).

В нашей работе сравнивались два штамма агробактерий, AGL0 и ЕНА105, и две концентрации Silwet® L-77: 0,02 и 0,05%. Трансформации подвергались растения 3 сортов ярового рыжика отечественной селекции: Омич, Исилькулец и Кристалл – по 4 растения для каждой повторности. Трансформация проводилась вектором, содержащим репортерную кассету RUBY (He et al, 2020), экспрессирующую гены, обеспечивающие синтез пигмента беталаина. Использование такого маркера позволяет быстро оценить эффективность трансформации каждого варианта — у трансгенных семян изменяется окраска с рыжего на красный. Отобранные трансгенные семена проращивали для получения растений нового поколения. Интересно, что у *C. sativa*, в отличие от *N. benthamiana* или *A. thaliana* (Yu, J et al., 2023) беталаин накапливается преимущественно в корнях, и почти не виден в побегах, хотя ПЦР в режиме реального времени подтверждает наличие трансгенной вставки и в зелёных листьях.

Количество семян, полученных для разных вариантов эксперимента составляло от 351 до 1529, что в основном зависело от сорта. Эффективность трансформации варьировала от 0,7% до 2%, что сопоставимо с эффективностью трансформации рыжика этим методом в других работах. Например, в первой опубликованной работе по трансгенезу *C. sativa* было получено 76 трансгенных семян из 6000 (Lu, C. and Kang, J. 2008).

Максимальная эффективность была достигнута для сортов Кристалл и Исилькулец при использовании штамма ЕНА105 и Silwet® L-77 в концентрации 0,02%.

#### Список литературы:

1. Clough SJ, Bent AF (1998) Floral dip: a simplified method for *Agrobacterium*-mediated transformation of *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 16:735–7
2. Ghidoli, M.; Ponzoni, E.; Araniti, F.; Miglio, D.; Pilu, R. Genetic Improvement of *Camelina sativa* (L.) Crantz: Opportunities and Challenges. *Plants* 2023, 12, 570
3. He, Y.; Zhang, T.; Sun, H.; Zhan, H.; Zhao, Y. A reporter for noninvasively monitoring gene expression and plant transformation. *Hortic. Res.* 2020, 7, 152
4. Lee, K.-R.; Yeo, Y.; Lee, J.; Kim, S.; Im, C.; Kim, I.; Lee, J.; Lee, S.-K.; Suh, M.C.; Kim, H.U. Functional Characterization of the Effects of CsDGAT1 and CsDGAT2 on Fatty Acid Composition in *Camelina sativa*. *Int. J. Mol. Sci.* 2024, 25, 6944
5. Lu, C. and Kang, J. (2008) Generation of transgenic plants of a potential oilseed crop *Camelina sativa* by *Agrobacterium*-mediated transformation. *Plant Cell Rep.* 27, 273–278
6. Yu, J.; Deng, S.; Huang, H.; Mo, J.; Xu, Z.-F.; Wang, Y. Exploring the Potential Applications of the Noninvasive Reporter Gene RUBY in Plant Genetic Transformation. *Forests* 2023, 14, 637
7. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. <https://gossortrf.ru/publication/reestry.php>



# ПОДБОР УСЛОВИЙ ДЛЯ ИНДУКЦИИ КАЛЛУСООБРАЗОВАНИЯ, РЕГЕНЕРАЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ И РИЗОГЕНЕЗА У ЛЮПИНА УЗКОЛИСТНОГО (*LUPINUS ANGUSTIFOLIUS*) В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Жгунов И.С., Мартиросян Л.Ю., Мартиросян Ю.Ц.

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550,  
E-mail: [ivanland@mail.ru](mailto:ivanland@mail.ru)

Люпин является важной сельскохозяйственной культурой. Разные виды и сорта активно используются в качестве кормовых и сидеративных культур, а также в пищу. Зерно люпина является источником питательного легкоусвояемого белка, по аминокислотному составу сравнимого с белком сои. Содержание белка в зерне при этом также высоко и сравнимо с соей (доходит до 33-42%) [1, 2]. Зерно люпина практически не содержит ингибиторов трипсина, что выгодно выделяет его на фоне сои в качестве кормовой и пищевой культуры [2]. Люпин является ценным звеном севооборота, обогащает почву доступным фосфором и за счёт симбиоза с азотфиксирующими микроорганизмами обогащает почву азотом [2]. Однако имеется и ряд недостатков: люпин подвержен антракнозу и фузариозу (что приводит к серьёзным потерям урожая), часто содержит в своём составе алкалоиды, токсичные для млекопитающих. Основной проблемой современной селекции люпина является его высокая восприимчивость к грибным и бактериальным заболеваниям. Фитопатогены накапливаются в севообороте и легко передаются с семенным материалом. Устойчивость к заболеваниям главным образом фактор полигенный, что затрудняет отбор полностью устойчивых форм. Успехи в этой области связаны в основном с люпином узколистным. По вышеуказанным причинам есть необходимость с помощью методов биотехнологии (и получения генетически модифицированных форм) улучшить сортовые качества люпина. Люпин считается культурой, плохо поддающейся трансформации и культивированию *in vitro*. Поэтому необходимо выработать эффективные протоколы регенерации проростков люпина в условиях культуры *in vitro*, которые в дальнейшем могут быть использованы при получении генно-инженерных форм.

Цель нашей работы - разработать условия регенерации и ризогенеза люпина из каллусных тканей, полученных из различных типов эксплантов. В дальнейшем планируется получение оздоровленного исходного материала отечественных сортов люпина узколистного в *in vitro*. Была разработана комбинированная методика введения семян сортов российской селекции люпина узколистного в культуру *in vitro*, включающая этапы термотерапии и химиотерапии. Семенной материал после термотерапии стерилизовали посредством поверхностной обработки 0,5М раствором H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1М NaOH, 15% NaClO (между применением различных стерилизующих веществ семена промывали дистиллированной водой в течение 5 минут) в течение 15-20 минут с последующим трехкратным промыванием семян дистиллированной водой в течение 5 минут и последующим замачиванием семян в дистиллированной воде в течение 2 часов. Такой метод обработки позволяет эффективно вводить семена в культуру *in vitro*, а также позволяет проводить предварительную селекцию семян, так как повреждённые семена внешне видоизменяются при замачивании.

Семена проращивали на полной или половинной среде Мурашиге-Скуга (MS) с добавлением смеси витаминов и органических кислот.

Подобраны условия, позволяющие индуцировать каллусообразование на эксплантах, полученных из проростков люпина узколистного. Каллусы наилучшим образом индуцировались на фрагментах гипокотыля, также удалось успешно индуцировать каллусообразование на фрагментах корня и корневой шейки, на других типах эксплантов

эффективность была ниже. Для индукции каллусогенеза применяли среду на основе половинной среды Мурашиге-Скуга ( $\frac{1}{2}$  MS) с добавлением смеси витаминов и органических кислот и фитогормонов 6-БАП и НУК в концентрациях 0,5 мг/л и 2 мг/л соответственно. На вышеуказанных эксплантах эффективность каллусогенеза достигала 96-100%. Морфогенность полученных каллусных тканей, однако, была выражена неярко и проявлялась лишь на каллусах, полученных из гипокотилей. В литературных источниках встречаются случаи использования аналогичных сред с повышенным содержанием ауксинов на этапе индукции каллусообразования [3], однако в большинстве случаев используются среды с повышенным содержанием цитокининов (например [4]), также как и для индукции регенеративных процессов. В литературе редки сведения о получении каллусов из корней люпина, а по имеющимся данным такие каллусы оказывались аморфогенны [5].

Аналогичным образом параллельно были индуцированы процессы прямого геммогенеза на аналогичной среде, встречались случаи проявления прямой регенерации и каллусогенеза на одном и том же экспланте. Эффективность индукции прямой регенерации достигала 67-84%, причём эффективно индуцировать регенеративные процессы удалось на фрагментах гипокотилей, расположенных наиболее близко к семядольному узлу (и содержащих фрагменты его тканей), и осях зародыша. Данные о большей эффективности индукции регенерации из осей зародыша и эксплантов, содержащих фрагменты семядольного узла (включая и фрагменты гипокотилей), соотносятся с литературными данными [5, 6].

Для индукции ризогенеза изменили состав и соотношение регуляторов роста: использовали среды с добавлением 0,1 мг/л кинетина и 1 мг/л ИУК или ИМК. В некоторых случаях укоренить проростки всё же удалось, однако пока укореняемость остаётся крайне низкой.

Одной из основных проблем при работе с зернобобовыми в культуре *in vitro* является выделение ими в среду комплекса фитотоксичных фенольных соединений и продуктов их окисления. Это приводит к визуальному потемнению среды и к некрозу тканей эксплантов, регенерантов или каллусных тканей [7]. Для борьбы с этим явлением в среду добавляли активированный уголь (до 5 г/л) или поливинилпирролидон (2 г/л) в качестве адсорбентов, аскорбиновую кислоту или смесь лимонной и аскорбиновой кислот (50 и 100 мг/л соответственно) в качестве антиоксидантов. Аналогичные подходы встречаются в литературе [4, 7]. Наилучшие результаты достигаются на средах с активированным углём и смесью аскорбиновой и лимонной кислот. Необходимо проводить дальнейшую оптимизацию состава сред и условий культивирования, для повышения эффективности подавления некроза тканей эксплантов.

#### **Список литературы:**

1. Цыгуткин, А. С. и др. Аминокислотный состав зерна белого люпина сортов Гамма и Дега. //Достижения науки и техники АПК – 2011. – № 9. – С. 41-43.
2. Резвякова, С. В. и А. С. Архангельская. Защита люпина белого от антракноза. //Вестник аграрной науки. – 2018. – 3 (72). – С. 83-86.
3. Sroga G. E. Callus and suspension culture of *Lupinus angustifolius* cv. *turkus* //Plant science letters. – 1983. – Т. 32. – №. 1-2. – С. 183-192.
4. Phoplonker M. A., Caligari P. D. S. Cultural manipulations affecting callus formation from seedling explants of the pearl lupin (*Lupinus mutabilis* Sweet) //Annals of applied biology. – 1993. – Т. 123. – №. 2. – С. 419-432.
5. Sroga G. E. Plant regeneration of two *Lupinus* spp. from callus cultures via organogenesis //Plant Science. – 1987. – Т. 51. – №. 2-3. – С. 245-249.
6. Aslam M. M. et al. In vitro regeneration potential of white lupin (*Lupinus albus*) from cotyledonary nodes //Plants. – 2020. – Т. 9. – №. 3. – С. 318.

7. Abdelwahd R. et al. Use of an adsorbent and antioxidants to reduce the effects of leached phenolics in in vitro plantlet regeneration of faba bean //African journal of biotechnology. – 2008. – Т. 7. – №. 8.

## НОКАУТ ГЕНОВ *StDMR6-1* И *StPAIN-1* КАРТОФЕЛЯ *S. TUBEROSUM* ТЕХНОЛОГИЕЙ CRISPR/CAS9

Волков М.К., Антипов А.Д., Сущенко А.С., Монахова Ю.В.,  
Трофимов А.С., Карлов В.Д. \*

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550;  
E-mail: v4slvk@yandex.ru

Картофель (*Solanum tuberosum*) является третьей по значимости сельскохозяйственной культурой в мире. Сезонность данной культуры вынуждает производителей хранить клубни длительное время для более равномерной переработки. Оптимальная температура хранения клубней картофеля составляет 2-4 °С. Однако понижение температуры инициирует в клубнях процесс холодового осахаривания, заключающийся в расщеплении крахмала до восстанавливающих сахаров, таких как фруктоза и глюкоза. При обжарке таких клубней происходит реакция Майяра между восстанавливающими сахарами и аминокислотами, в результате чего образуются акриламид, являющийся канцерогеном, и другие соединения, придающие картофелю темную окраску и горький вкус. В процесс холодового осахаривания наибольший вклад вносит фермент вакуолярная инвертаза Pain-1, катализирующая гидролиз сахарозы до фруктозы и глюкозы (Clasen, 2016). Неоднократно было показано, что инактивация гена *StPAIN-1*, кодирующего вакуолярную инвертазу, приводит к снижению накопления восстанавливающих сахаров в клубнях картофеля и как следствие минимизирует формирование токсичных побочных продуктов реакции Майяра в результате обжарки (Zhu, 2014).

Одно из самых разрушительных заболеваний картофеля – фитофтороз, вызываемое оомицетом *Phytophthora infestans*. Противодействие фитофторозу осуществляется обработкой фунгицидами и подбором сортов, содержащих гены резистентности (R-гены), однако данные гены встречаются редко и преодолеваются эволюцией патогенов. Одним из перспективных способов повышения устойчивости картофеля к фитофторозу является инактивация генов восприимчивости (S-генов), кодирующих негативные регуляторы защитных реакций растений. Для картофеля одним из таких генов является *StDMR6-1*, кодирующий 2-оксоглутарат Fe(II)-зависимую оксигеназу, участвующую в утилизации салициловой кислоты. Как было показано, нокаут *StDMR6-1* снижал заболеваемость растения фитофторозом и некоторыми другими инфекциями, а также способствовал выживаемости при абиотическом стрессе (Karlsson, 2024), (Kieu, 2021).

Целью нашей работы было получение растений картофеля с одновременно нокаутированными генами *StPAIN-1* и *StDMR6-1* с помощью технологии CRISPR/Cas9. В качестве объекта работы был выбран картофель *S. tuberosum* L. сорта «Фрителла». В результате агробактериальной трансформации нами было получено 176 регенерантов, из которых по итогам первичного скрининга было отобрано 79 линий для секвенирования на платформе Illumina. Согласно данным NGS нам удалось достичь высокой эффективности нокаута гена *StPAIN-1* – более 90%. В то же время, эффективность редактирования *StDMR6-1* оказалась значительно ниже – мутации содержали 57% регенерантов.

В результате одновременного редактирования генов *StPAIN-1* и *StDMR6-1* нам удалось отобрать 4 растения с нокаутированными целевыми генами, которые были отобраны для дальнейших испытаний.

Работа была финансово поддержана государственной программой КПНИ «Картофелеводство».

#### **Список литературы:**

1. Clasen, B. M., Stoddard, T. J., Luo S., Demorest, Z. L., Li, J., Cedrone, F. (2016). Improving cold storage and processing traits in potato through targeted gene knockout. *Plant Biotechnology Journal* 14, 169–176. doi: 10.1111/pbi.12370
2. Zhu, X., Richael, C., Chamberlain, P., Busse, J. S., Bussan, A. G., Jiang, J., Bethke, P. C. (2014). Vacuolar Invertase Gene Silencing in Potato (*Solanum tuberosum* L.) Improves Processing Quality by Decreasing the Frequency of Sugar-End Defects. *PLoS One* 9, doi: 10.1371/journal.pone.0093381
3. Karlsson, M., Kieu, N. P., Lenman, M., Marttila, S., Resjö, S., Zahid, M., Andreasson E. (2024). CRISPR/Cas9 genome editing of potato *StDMR6-1* results in plants less affected by different stress conditions. *Hortic Res* 11, doi: 10.1093/hr/uhae130
4. Kieu, N. P., Lenman, M., Wang E. S., Petersen, B. L., Andreasson, E. (2021) Mutations introduced in susceptibility genes through CRISPR/Cas9 genome editing confer increased late blight resistance in potatoes. *Scientific reports* 11, doi: 10.1038/s41598-021-83972-w

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНОМНОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ И ЯЧМЕНЯ**

**Киселёва А.А.<sup>1,2\*</sup>, Тимонова Е.М.<sup>1,2</sup>, Бережная А.А.<sup>2</sup>, Короткова А.М.<sup>1,2</sup>, Коложвари А.Э.<sup>1</sup>, Нестеров М.А.<sup>1,2</sup>, Кочетов А.В.<sup>1,2</sup>, Салина Е.А.<sup>1,2</sup>**

**1 – ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия.**

**2 – Курчатowskiй геномный центр, Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия**

**\*E-mail: antkiseleva@bionet.nsc.ru**

Пшеница (*Triticum aestivum* L.) и ячмень (*Hordeum vulgare* L.) являются одними из важнейших зерновых культур в мире, поэтому необходимо адаптировать и применять для них новые технологии. Одним из подходов для улучшений качеств существующих сортов является геномное редактирование. При этом злаки - довольно сложный объект для трансформации и редактирования генома, это обусловлено рядом факторов, где одной из основных проблем является генотип-зависимая способность к трансформации и регенерации (Cardi et al. 2023). Из-за такой особенности для многих видов редактирование проводят лишь на небольшом количестве модельных сортов, что подходит только для фундаментальных целей – изучения генов. Ярким примером является ячмень – более 70% работ по редактированию выполнено на материале сорта Golden Promise, для которого была разработана очень эффективная система агробактериальной трансформации незрелых зародышей (Bekalu et al. 2023). Трансформация пшеницы дополнительно затруднена из-за большого размера генома и полиплоидии.

Помимо получения растений с улучшенными сельскохозяйственными качествами, целью настоящего исследования была оптимизация метода геномного редактирования на

основе системы CRISPR/Cas9 с использованием биобаллистики немодельных сортов ячменя и пшеницы.

Для редактирования ячменя был выбран ген *NUD*, мутации в котором приводят к формированию голозерного фенотипа. Поскольку способность к регенерации остается проблемой для культивируемых сортов ячменя, мы использовали плазмидный вектор JD633, содержащий химеру генов, кодирующих кодируют факторы роста *GRF4* и *GIF1*, для повышения эффективности регенерации (Debernardi et al. 2020). С использованием биобаллистической трансформации незрелых зародышей и каллусов было получено 10 растений T0 сортов Целинный, Алей и линии Г-23035 с мутациями в целевом гене.

Для работы по редактированию мягкой пшеницы использовали линию отечественной селекции Велют, которая характеризуется хорошей способностью к регенерации, поэтому в данном случае мы не стали использовать вектор с факторами роста, а создали конструкцию с двумя направляющими РНК для возможности получения небольших делеций в промоторной области генов *Ppd-1*. Предполагалось, что подобные мутации приведут к ускоренному колошению растений. С использованием биобаллистической трансформации было получено 54 растения T0 с мутациями в целевых генах.

Дальнейший отбор позволил получить растения поколения T2 ячменя и пшеницы, у которых целевые мутации находятся в гомозиготном состоянии, отсутствуют встройка вектора и нецелевые мутации, а также подтверждено изменение фенотипа (голозерность для ячменя и ускорение колошения для пшеницы). Таким образом, в ходе работы мы получили растения возделываемых сортов ячменя и пшеницы с целевыми изменениями в сельскохозяйственно-значимых генах.

Благодарности: Исследование выполнено при финансовой поддержке Курчатовского Геномного Центра ИЦиГ СО РАН №075-15-2019-1662.

#### **Список литературы:**

1. Bekalu ZE, Panting M, Bæksted Holme I, Brinch-Pedersen H (2023) Opportunities and Challenges of In Vitro Tissue Culture Systems in the Era of Crop Genome Editing. *Int J Mol Sci* 24:11920.
2. Cardi T, Murovec J, Bakhsh A, et al (2023) CRISPR/Cas-mediated plant genome editing: outstanding challenges a decade after implementation. *Trends Plant Sci* 28:1144–1165.
3. Debernardi JM, Tricoli DM, Ercoli MF, et al (2020) A GRF–GIF chimeric protein improves the regeneration efficiency of transgenic plants. *Nat Biotechnol* 38:1274–1279.

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВЕКТОРА НА ОСНОВЕ ВИРУСА МИКСОМЫ КРОЛИКОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА CD2V РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ**

**Кольцов А.Ю., Сухер М.М., Крутько С.А., Белов С.В., Кольцова Г.С.**

**ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии»  
(ФГБНУ ФИЦВиМ,) пос. Вольгинский 601125**

Африканская чума свиней — контагиозная вирусная геморрагическая лихорадка домашних и диких свиней. Смертность восприимчивых животных может достигать 100 %. Вирус АЧС — крупный икосаэдрический цитоплазматический вирус, единственный представитель семейства *Asfarviridae*.

В настоящий момент в России не зарегистрировано вакцин против АЧС, однако в некоторых странах Азии доступно несколько коммерческих вакцин. Все вакцины являются живыми и основаны на рекомбинантных вирусах АЧС, ослабленных путем

удаления генов-вирулентности. Однако многие исследователи отмечают существенные риски, связанные с использованием живых вакцин против АЧС. В настоящее время ведется активный поиск антигенов вируса АЧС, способных обеспечить защиту животных. В связи с этим возникает вопрос о создании систем накопления вирусных белков для исследования и доставки их в организм хозяина. В качестве одного из экспрессионных векторов для наработки белков вируса АЧС нами ранее было предложено использовать вакцинный штамм В82 вируса миксомы кроликов. Мы предполагаем, что данный вирусный вектор может быть использован для решения сразу нескольких задач, таких как накопление вирусных белков с целью изучения их свойств и функций, использование для серологической диагностики, а также рекомбинантные штаммы вируса миксомы, экспрессирующие гены вируса АЧС, могут быть использованы и для иммунизации животных для характеристики их иммуногенных и протективных свойств.

Нами было установлено, что белок CD2v вируса АЧС обуславливает серотиповую принадлежность вируса и может играть важную роль при индукции защитного иммунитета против заражения гомологичным штаммом.

Целью данной работы было получение и характеристика двух рекомбинантных штаммов вируса миксомы, экспрессирующих ген *EP402R* штамма Ставрополь\_01/08 и штамма К49 вируса АЧС, принадлежащих к разным серотипам вируса.

Родительский вакцинный штамм В82 вируса миксомы, а также штаммы Ставрополь\_01/08 (генотип II, серотип 8) и К49 (Congo-v) (генотип I, серотип 2) вируса АЧС были получены из коллекции микроорганизмов ФГБНУ ФИЦВиМ. Рекомбинантные штаммы вируса миксомы были получены путем гомологичной рекомбинации с использованием рекомбинационных кассет. Для селекции рекомбинантного вируса использовали метод предельных разведений и «бляшкообразования». Отбор рекомбинантных клонов проводили на основании наличия репортерной флуоресценции белка RFP методом флуоресцентной микроскопии инфицированной культуры клеток RK-13. Отсутствие исходного (родительского) штамма В82 вируса миксомы подтверждали методом ПЦР в режиме реального времени с использованием специфических праймеров, комплементарных удалённой области. Правильность прохождения гомологичной рекомбинации и отсутствие нуклеотидных замен в области рекомбинации были подтверждены нуклеотидным секвенированием методом Сэнгера.

На первоначальном этапе были созданы две рекомбинационные кассеты, которые позволяли ввести в геном вируса миксомы гены *EP402R*, кодирующие белок CD2v штаммов Ставрополь\_01/08 и К49 вируса АЧС. В качестве области рекомбинации был выбран межгенный участок *M061R/M062R*. Для получения рекомбинационной кассеты на данном этапе работы в вектор pUC57 были последовательно клонированы участки, соответствующие фрагментам генов *M061R* и *M062R* вируса миксомы, которые являются «плечами рекомбинации». Между этими «плечами» клонировали ген *EP402R* штаммов Ставрополь\_01/08 и К49 вируса АЧС под контролем осповирусного промотора P7.5 в рекомбинационную кассету 1 и 2 соответственно. Кроме того, в каждую рекомбинационную кассету был добавлен ген репортерного белка RFP под контролем промотора P11 осповакцины.

Эти кассеты были использованы для получения двух рекомбинантных штаммов вируса миксомы. Клетки RK-13 инфицировали родительским штаммом В82 и трансфицировали рекомбинационными кассетами. В результате гомологичной рекомбинации были получены рекомбинантные клоны, селекцию которых проводили по репортерной флуоресценции белка RFP в культуре клеток RK-13. Отсутствие родительского штамма В82 подтвердили методом ПЦР в режиме реального времени. Результаты нуклеотидного секвенирования последовательности генома рекомбинантных штаммов, соответствующей области рекомбинации, подтвердили отсутствие нуклеотидных замен в данной области, а также в добавленных генах *EP402R* штаммов Ставрополь\_01/08 и К49 вируса АЧС.

Экспрессия чужеродного гена *EP402R* штаммов Ставрополь\_01/08 и К49 вируса АЧС при инфицировании рекомбинантными вирусами была подтверждена методом вестерн-блота и иммунофлюоресцентного анализа с использованием антител против НА-tag (последовательность которого была добавлена к С-концевой области белков CD2v), а также с использованием гипериммунных сывороток против 8 и 2 серотипов вируса АЧС соответственно.

Сравнительный анализ культуральных свойств двух рекомбинантных штаммов вируса миксомы и родительского штамма В82 вируса миксомы не выявил существенных отличий кинетики репликации *in vitro*, а также в характере цитопатического действия (ЦПД) вирусов на клетки. При добавлении к культуре клеток эритроцитов свиней репликация обоих рекомбинантных штаммов вируса миксомы сопровождалась развитием феномена гемадсорбции, что подтверждало эффективную экспрессию гена *EP402R* вируса АЧС. При этом характер гемадсорбции рекомбинантных штаммов вируса миксомы был схож с характером гемадсорбции штаммов Ставрополь\_01/08 и К49 вируса АЧС в первичной культуре клеток макрофагов свиней. Кроме того, нами было продемонстрировано, что референтная сыворотка против 8 серотипа вируса АЧС ингибировала гемадсорбцию в клетках, инфицированных полученным рекомбинантным штаммом с геном *EP402R* штамма Ставрополь\_01/08. В то время как, референтная сыворотка против 2 серотипа вируса АЧС ингибировала гемадсорбцию рекомбинантного штамма с геном *EP402R* штамма К49. Мы также тестировали сыворотки, отобранные от животных, иммунизированных аттенуированными штаммами вируса АЧС 2 и 8 серотипов. Мы продемонстрировали, что рекомбинантные вирусы миксомы с генами *EP402R* могут быть использованы для выявления антител против белка CD2v, а также для определения серотипа вируса методом РЗГАд.

Иммуногенность полученных штаммов была подтверждена путем внутрикожной иммунизации кроликов. Антитела в сыворотках данных кроликов были детектированы на 28 dpi.

Таким образом, в результате проведенных работ нами были получены и охарактеризованы два рекомбинантных штамма вируса миксомы, экспрессирующих ген *EP402R* штамма Ставрополь\_01/08 и штамма К49 вируса АЧС. Мы также показали, что рекомбинантные вирусы миксомы с генами *EP402R* могут быть использованы для выявления антител против белка CD2v и определения серотипа вируса методом РЗГАд, а также для получения гипериммунных сывороток кроликов против данного белка.

## **ИЗУЧЕНИЕ ФАКТОРОВ ИНИЦИАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ СЕМЕЙСТВА eIF4E ТАБАКА ВО ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С ВИРУСНЫМ БЕЛКОМ VPg ВИРУСА КАРТОФЕЛЯ Y**

**Никаноркина В.В.<sup>1</sup>, Криолло Дельгадо Л.М.<sup>2</sup>, Таранов В.В.<sup>1</sup>, Лебедева М.В.<sup>1</sup>**

**1 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва, Россия;**

**2 – Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования "Сколковский институт науки и технологий", Москва, Россия.**

**E-mail: vnikanorkina@mail.ru**

Среди растительных вирусов наиболее распространенным и вредоносным является вирус картофеля Y (PVY). PVY принадлежит к крупнейшему семейству РНК-содержащих вирусов роду *Potyvirus*, поражающих такие растения, как картофель, томат, табак. В частности, он вызывает одно из самых опасных заболеваний табака. Табак (*Nicotiana tabacum*) — одна из широко культивируемых непродовольственных товарных культур,

используется в качестве модельного растения для изучения функций генов и метаболических процессов.

Геном PVY представляет собой одноцепочечную молекулу РНК длиной около 10000 оснований, полиаденилированной на 3'-конце и ковалентно связанной с вирусным белком VPg (viral genome linked protein) на 5'-конце. Выделяют три штамма вируса картофеля Y, PVY-N, PVY-O и PVY-C, а также рекомбинантные штаммы N:O и NTN. На сегодняшний день NTN считается самым опасным, поскольку вызывает некроз жилок на табаке, что приводит к большим потерям урожая. Штамм NTN один из самых распространённых как на табаке, так и на картофеле.

Заражение потивирусной инфекцией зависит от сложных взаимодействий между факторами, кодируемыми вирусом и хозяином. Для PVY ранее было показано, что инициация трансляции вирусных РНК в клетках происходит при взаимодействии вирусного белка VPg с растительными факторами инициации трансляции семейства eIF4E. Факторы инициации трансляции eIF4E связываются с экзистированным 5'- концом мРНК, однако белок VPg имитирует экз-структуру мРНК клетки-хозяина, что позволяет начать синтез вирусных белков в растительной клетке. В табаке восемь генов факторов инициации трансляции eIF4E, они могут использоваться для инициации трансляции как растительных белков, так и белков вируса.

Целью исследования являлось установить, с какими изоформами eIF4E табака взаимодействует VPg наиболее распространённого штамма Y NTN.

Ранее было установлено, eIF4E-1 является главным фактором восприимчивости, как у табака, так и у картофеля, однако вирусом могут использоваться и другие факторы, какие именно из оставшихся семи неизвестно. В данной работе были идентифицированы все изоформы мультисемейства eIF4E факторов инициации трансляции табака. На основе природного разнообразия, представленного в базе данных, и проанализированной литературы, было отобрано варианты VPg штамма NTN для проверки их взаимодействия с факторами eIF4E табака.

В данной работе для исследования функциональности белков eIF4E был применен метод комплементации роста дрожжей штамма Jo55, полученные данные показали, что две из идентифицированных нами форм eIF4E функционально не активны. Также был проведен дрожжевой двугибридный анализ для изучения взаимодействия белков eIF4E и VPg.

Определение аминокислотных замен в факторах инициации трансляции eIF4E, не влияющие на его функциональность, но нарушающие его взаимодействие с вирусным белком VPg представляется актуальной задачей. Поскольку мультисемейство белков eIF4E сходно у большинства растений Пасленовых (Solanaceae), полученные данные можно будет использовать для других культур, таких как картофель, перец и томат.

## **VIRUS-INDUCED GENE EDITING AS NEW BRANCH OF BIOLOGICAL MUTAGENESIS**

**Polkhovskiy A.V.<sup>1,2,3</sup>, Dmitrieva M.V.<sup>1,2</sup>, Kirov I.V.<sup>1,2</sup>**

*1 – Moscow Institute of Physics and Technology, Moscow, Russia*

*2 – All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow, Russia*

*3 – Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia*

Biological mutagenesis (BM) implies usage of natural mutagens, like transposable elements, to widen genetic variability of modern crops [1]. Virus-Induced Gene Editing (VIGE) is becoming yet another branch of BM. VIGE is an innovative approach that harnesses the natural capabilities of viruses to deliver gene-editing tools, such as CRISPR-Cas9, into target



cells for precise genomic alterations without actual transgenesis. By engineering viral vectors to carry specific nucleases and guide RNAs, VIGE enables targeted gene modification, including gene knockouts and corrections of genetic mutations. This GMO-free technique offers significant potential for the enhancement of desirable traits in agriculture and obtaining new crop varieties in a short time frame. The use of Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV) as a vector for VIGE has shown significant promise [2]. TSWV can efficiently infect a wide range of plant species, making it an ideal candidate for delivering gene-editing components to improve crop resilience, enhance disease resistance, and increase yield.

Here we describe the procedure of genetically edited *Nicotiana benthamiana* plants creation via VIGE methodology from *in silico* design to the M<sub>1</sub> progeny screening. We also cover such aspects as VIGE mutagenesis efficiency, various viral application techniques and future perspectives.

#### References:

1. Kirov, I., Toward Transgene-Free Transposon-Mediated Biological Mutagenesis for Plant Breeding. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023. 24(23): p. 17054.
2. Liu, Q., et al., Engineered biocontainable RNA virus vectors for non-transgenic genome editing across crop species and genotypes. *Molecular Plant*, 2023. 16(3): p. 616-631.

## ИЗУЧЕНИЕ ВРЕМЕНИ ВКЛЮЧЕНИЯ И СИЛЫ ПРОМОТОРОВ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ

Рудакова С.В., Сухер М.М., Кольцов А.Ю., Кольцова Г.С.

**ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии»  
(ФГБНУ ФИЦВиМ), пгт. Вольгинский, 601125;  
E-mail: info@ficvim.ru**

Африканская чума свиней (АЧС) – это особо опасная высококонтагиозная болезнь домашних и диких свиней, характеризуется лихорадкой, обширными гемorragиями и цианозом кожи, тяжёлыми поражениями внутренних органов, и высокой летальностью. Заражение происходит аэрогенно, алиментарно, через повреждённые слизистые оболочки. Заболеванию не зависит от времени года, породы и возраста.

Возбудителем болезни является единственный представитель семейства *Asfviridae* и рода *Asfivirus* крупный цитоплазматический ДНК-содержащий вирус. Вирус имеет 20-гранную форму, величина его варьирует от 170 до 193 нм. Реплицируется преимущественно в цитоплазме макрофагов.

Экспрессия генов вируса АЧС происходит в упорядоченной последовательности по типу каскадного механизма. Перед репликацией ДНК запускаются пред-ранние мРНК, которые, в свою очередь, запускают ранние мРНК. После начала репликации ДНК начинается уже транскрипция средних генов, а транскрипция поздних генов достигает максимальных уровней через 12-16 часов после инфекции и медленно уменьшается до конца цикла заражения, который занимает около 18 часов.

На основе биоинформатического анализа генома вируса АЧС и его транскриптомы были получены данные, позволяющие предположить, какие гены являются ранними, а какие поздними. Однако экспериментальных подтверждений получено немного. Изучение промоторов вируса АЧС связано, прежде всего, с необходимостью понимания биологии вирусов. Кроме того, охарактеризованные промоторы могут быть использованы для получения рекомбинантных вирусов. Именно получение рекомбинантных вирусов АЧС с удалёнными и/или изменёнными генами в настоящий момент представляют собой наиболее перспективный подход для разработки вакцин против АЧС. На данный момент

самым изученным промотором вируса АЧС является поздний промотор гена *B646L*, кодирующего основной белок капсида p72. Поиск и характеристика других промоторов вируса АЧС позволит получать рекомбинантные вирусы с разным уровнем и временем экспрессии интересующих генов.

В связи с этим целью данной работы была характеристика времени включения и силы промоторов вируса африканской чумы свиней.

Для выполнения данной цели нами были поставлены следующие задачи:

1. Получить генетические конструкции, содержащие ген *GFP* под контролем вирусных промоторов генов *A137R*, *E184L*, *D205R*, *I267L*, *CP2475L*, *B646L*, *D117L*, *S273R*, *D1133L*, *MGF360-15R*, *A179L*, *I226R*, *DP146L*, *B125R*, *S183L* вируса АЧС.
2. Изучить время включения данных промоторов по времени появления сигнала *GFP*.
3. Изучить силу данных промоторов по накоплению репортерного белка.

В работе использовались штамм МК200 вируса АЧС из ГК ФГБНУ ФИЦВиМ, культура клеток почки зелёной мартышки COS-1, наборы для выделения ДНК, реактивы для проведения ПЦР и молекулярного клонирования, компетентные клетки *E.coli* XL1-blue, также реактивы для культивирования клеток и трансфекции.

Последовательности предполагаемых промоторов генов были определены на основе биоинформатического анализа генома вируса АЧС. Фрагменты генома вируса АЧС, соответствующие промоторным областям, были амплифицированы методом ПЦР и включены в состав плазмидного вектора pUC57 вместе с полноразмерной копией гена *GFP*. Анализ времени включения промоторов проводили методом флуоресцентной микроскопией на основании детекции *GFP* в клетках COS-1 после трансфекции их полученными плазмидами и инфекции вирусом АЧС. Анализ силы промоторов проводили методом спектрофотометрии на основании детекции *GFP* в клетках COS-1 после трансфекции их полученными плазмидами и инфекции вирусом АЧС.

В ходе анализа вируса АЧС были выбраны промоторы генов *A137R*, *E184L*, *D205R*, *I267L*, *CP2475L*, *B646L*, *D117L*, *S273R*, *D1133L*, *MGF360-15R*, *A179L*, *I226R*, *DP146L*, *B125R*, *S183L* вируса АЧС для их характеристики. Последовательности этих промоторов были клонированы перед геном репортерного белка *GFP* в вектор pUC57. Таким образом, были получены 15 конструкций, которые использовались для дальнейшего анализа.

На втором этапе работы, клетки COS-1 трансфицировали полученными конструкциями, а затем инфицировали вирусом АЧС и проводили флуоресцентную микроскопию на системе «CELENA X» в режиме реального времени в течение 20 часов. Анализ включения выбранных промоторов на основе времени появления сигнала *GFP* показал, что среди выбранных промоторов есть как ранние, так и средние, и поздние промоторы вируса АЧС.

Сила промоторов оценивалась по удельной флуоресценции *GFP* на мкг общего белка. Анализ силы промоторов показал, что 5 промоторов оказались сильнее изученного ранее промотора гена *B646L*. К ним относились промоторы генов *A137R*, *E184L*, *D205R*, *CP2475L*, *I267L*. Тогда как остальные 9 промоторов оказались слабее референтного промотора гена *B646L*.

Таким образом, в результате проведенных работ были получены 15 генетических конструкций, содержащих репортерный ген *GFP* под контролем промоторов генов вируса АЧС. Было продемонстрировано, что все охарактеризованные промоторы относятся к разным по времени включения промоторам генов вируса АЧС, кроме того, промоторы генов *A137R*, *E184L*, *D205R*, *I267L*, *CP2475L* являются наиболее сильными охарактеризованными промоторами генов вируса АЧС.

## БЕЛОК p11.5 ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ МАРКЕР ДЛЯ РАЗРАБОТКИ DIVA-ВАКЦИН

Сухер М.М., Кольцов А.Ю., Крутько С.А., Белов С.В., Коротин А.В., Рудакова С.В.,  
Кольцова Г.С.

*ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии»  
(ФГБНУ ФИЦВиМ), ул. Академика Бакулова, стр. 1,  
пос. Вольгинский, Владимирская обл., Россия, 601125  
E-mail suhermail@mail.ru*

Африканская чума свиней (АЧС) — вирусное геморрагическое заболевание домашних свиней, смертность от которого достигает 100%. Возбудителем болезни является крупный ДНК-содержащий вирус, относящийся к семейству *Asfarviridae*. Генотипирование на основе гена B646L (кодирующего белок p72) позволило идентифицировать не менее 24 генотипов вируса АЧС. Болезнь распространена в большинстве районов Африки, так же вспышки АЧС регистрируют в Европейском союзе (с 2014 г.), в Азии (с 2018 г.), в Америке (с 2021 г.) и Океании (с 2020 г.). Начиная с 2007 года, во многих субъектах Российской Федерации отмечается неблагоприятная эпизоотологическая обстановка по АЧС.

Вакцины, которые в настоящее время продемонстрировали полную или частичную защиту от гомологичного штамма вируса АЧС, основаны на трех различных вариантах вируса: естественных низковирулентных штаммах вируса, ослабленных путем последовательного пассирования в гомологичных или гетерологичных клеточных линиях и рекомбинантных штаммах вируса с делецией генов, связанных с вирулентностью. В настоящее время наиболее перспективным и быстрым методом создания вакцин против АЧС является получение рекомбинантных штаммов вируса АЧС с делецией генов-вирулентности. Дополнительно в геномы таких рекомбинантных штаммов могут быть внесены изменения, позволяющие дифференцировать данные штаммы от вирулентных полевых изолятов, а, следовательно, такие рекомбинантные штаммы могут быть использованы для производства DIVA-вакцин.

Одним из генов, участвующих в вирулентности вируса АЧС, является поздно экспрессируемый ген A137R, кодирующий вирусный структурный белок p11.5. Учитывая высокий уровень экспрессии гена A137R во время репликации вируса и потенциально высокую иммуногенность белка, мы предполагаем, что данный ген/белок может быть использован в качестве негативного генетического и серологического маркера при получении DIVA-вакцины против АЧС.

Для подтверждения нашей гипотезы была сконструирована плаزمид, содержащая последовательность полноразмерного гена A137R, на основе вектора pEF1a\_3HA, содержащего последовательность промотора эукариотического фактора элонгации трансляции 1 альфа (EF1a) и последовательность HA-tag. Ожидаемый фрагмент ДНК приблизительно 430 п.о., соответствующий полноразмерному гену A137R без стоп-кодона штамма Ставрополь\_01/08 вируса АЧС, был амплифицирован методом ПЦР и клонирован в выше указанный вектор. Анализ литературы и биоинформатический анализ структуры белка позволил установить, что добавление HA-tag к С-концевой области не приведет к существенным изменениям его конформации и биологических свойств.

Сконструированная плаزمид была использована для трансфекции клеток COS-1 для транзientной экспрессии белка p11.5. Рекомбинантный белок p11.5 экспрессировался в клетках COS-1 как растворимый белок. Экспрессия рекомбинантного белка p11.5 была подтверждена иммунофлуоресцентным анализом (IFA) и вестерн-блоттингом (WB) с использованием моноклональных антител против HA-tag в качестве первичных антител и

антимышинных антител в качестве вторичных антител. Результаты вестерн-блоттинга продемонстрировали наличие специфической полосы с молекулярной массой приблизительно 14 кДа. Для подтверждения специфичности рекомбинантного белка p11.5 с HA-tag, проводили тестирование методами IFA и WB с использованием референтной гипериммунной сыворотки против второго серотипа вируса АЧС. Наши результаты показали, что добавление HA-tag не привело к значительным изменениям в конформации и локализации белка p11.5.

Два теста (IFA и WB) на основе рекомбинантного белка p11.5 использовались для оценки возможности использования данного белка в качестве основы серологических тестов для дифференциации животных, инокулированных мутантными штаммами вируса АЧС с делецией гена A137R, от свиней, инфицированных штаммами вируса АЧС, кодирующими белок p11.5.

Всего было протестировано 54 сыворотки свиней с использованием иммунофлуоресцентного анализа. Из них 34 образца были отобраны у животных, инфицированных различными штаммами вируса АЧС. Ранее данные сыворотки были протестированы с использованием коммерческого ИФА-набора IDScreen® African Swine Indirect (IDvet) с положительным (n=28) или сомнительным (S/P 30–40%) (n=6) результатами. Кроме того, для анализа были использованы 20 сывороток от животных, неинфицированных вирусом АЧС. Отсутствие антител к вирусу АЧС было также подтверждено методом ИФА.

Все сыворотки, полученные от свиней, инфицированных вирусом АЧС, содержащим ген A137R, были положительными при тестировании с помощью IFA на основе рекомбинантного белка p11.5. У животных, инокулированных мутантными вариантами вируса АЧС с делецией гена A137R, и у неинфицированных животных антител обнаружено не было. Результаты вестерн-блоттинга на основе рекомбинантного белка p11.5 для некоторых положительных, сомнительных и отрицательных сывороток полностью согласовались с результатами иммунофлуоресцентного анализа. Кроме того, результаты тестирования сомнительных сывороток были положительными, что указывало на более высокую чувствительность разработанных нами тестов на основе рекомбинантного белка p11.5.

Таким образом, как иммунофлуоресцентный анализ, так и вестерн-блоттинг на основе рекомбинантного белка p11.5 позволяют эффективно и специфично обнаруживать антитела против белка pA137R в сыворотках свиней, инфицированных вирусом АЧС. Мы продемонстрировали, что данный белок может быть использован в качестве негативного серологического маркера при получении DIVA-вакцин против АЧС. В дальнейшем, мы планируем получить несколько рекомбинантных штаммов вируса АЧС с делецией данного гена и изучить возможность их использования в качестве DIVA-вакцин против АЧС. Предложенные IFA- и WB-тесты будут использованы для тестирования сывороток от животных, инфицированных данными рекомбинантными штаммами, с целью подтверждения специфичности и чувствительности разработанных тестов.

## **СОЗДАНИЕ РАПСА С УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ИМИДАЗОЛИНОНАМ ПРИ ПОМОЩИ МЕТОДОВ ГЕНОМНОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ**

**Терентьева У.А.<sup>1,2</sup>, Лебедева М.В.<sup>1</sup>, Ражина О.Л.<sup>1</sup>, Таранов В.В.<sup>1</sup>**

*1 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550;*

*2 – Российский технологический университет МИРЭА, 101000, г. Москва, проспект Вернадского., 86, Российская Федерация*

*E-mail: terenntueva@gmail.com*

Рапс (*Brassica napus* L.) — важная масличная культура, является аллотетраплоидом, обладает двумя геномами: А (*B. campestris*) и С (*B. oleracea*). Рапсовое масло активно используется в пищевой промышленности, производстве биотоплива и кормов. В 2020 году мировая урожайность рапса составила 72,37 млн тонн, из которых около 4 млн тонн произвели в России. Продуктивность рапса зависит от устойчивости к стрессовым факторам: биотическим и абиотическим. В связи с этим, необходимо изменять хозяйственно-ценные признаки рапса так, чтобы обеспечить его лучший рост и развитие.

Одним из направлений является развитие устойчивости к гербицидам, например, имидазолинонам (IMI). Проблема неустойчивости полезных человеку культур к гербицидам всегда была актуальной, поскольку их использование позволяет эффективно бороться с сорняками, снижать количество обработок вследствие использования больших концентраций гербицида за один раз. В итоге, это приводит к росту урожайности, экономическим выгодам.

Устойчивость к гербицидам связана с геном ацетолактатсинтазы (ALS или AHAS), экспрессируемый с гена фермент участвует в биосинтезе аминокислот с разветвлённой цепью. Для рапса была выведена линия M9, полученная из природного мутантного растения с заменой в локусе AHAS1 (Ser653Asn), что обеспечило устойчивость к IMI.

Мы взяли несколько линий рапса, не обладающих устойчивостью к гербицидам. Зная, какие замены приводят к устойчивости, мы можем воспроизвести уже существующие мутации с помощью геномного редактирования. Классический вариант системы геномного редактирования, CRISPR/Cas9, вносит индел-мутации, что может привести к нокауту гена ALS. Разновидность системы CRISPR/Cas9, редакторы оснований (base editing), позволяют вносить точечные однонуклеотидные замены в целевой ген, однако, это менее эффективно, чем использование классического CRISPR/Cas9. Эффективность доставки компонентов системы редактирования в растение у капустных сильно зависит от генотипа. Поэтому нашей текущей задачей является разработать наиболее оптимальный и эффективный протокол трансформации для выбранных линий рапса.

#### **Список литературы:**

1. Zandberg, J.D. The Global Assessment of Oilseed Brassica Crop Species Yield, Yield Stability and the Underlying Genetics / J.D. Zandberg, C.T. Fernandez, M.F. Danilevicz et al. // *plants*. – 2022. – V. 11.
2. Kozar, E. Imidazolinone Resistance in Oilseed Rape (*Brassica napus* L.): Current Status, Breeding, Molecular Markers and Prospects for Application in Hybrid Seed Purity Improvement / E. Kozar, E. Domblides // *Horticulturae*. – 2024.
3. Sathasivan, K. Molecular basis of imidazolinone herbicide resistance in *Arabidopsis thaliana* var Columbia / K. Sathasivan, G. W. Haughn, N. Murai // *Plant Physiol.* – 1991. – V. 97. – P. 1044 – 1050.
4. Brosnan, J. A new amino acid substitution (Ala-205-Phe) in acetolactate synthase (ALS) confers broad spectrum resistance to ALS-inhibiting herbicides / J. Brosnan, J. J. Vargas, G. K. Breeden et al. // *Planta*. – 2016. – V. 243. – P. 149 – 159.
5. Hu, M. Molecular characterization and detection of a spontaneous mutation conferring imidazolinone resistance in rapeseed and its application in hybrid rapeseed production / M. Hu, H. Pu, L. Kong et al. // *Molecular Breeding*. – 2015. – V. 35.

# ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОМОТОРА ГЕНА ДЕФЕНЗИНА *Sm-D1* В ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЯХ ЗАВИСИТ ОТ ОРГАНИЗАЦИИ ОБЛАСТИ Т-ДНК БИНАРНОГО ВЕКТОРА

Трофимов А.С., Стрельникова С. Р., Комахин Р.А.

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550,  
E-mail: recombination@iab.ac.ru

Растительные антимикробные пептиды (АМП) - важные компоненты врожденного иммунного ответа. Одним из семейств АМП являются дефензины, содержащиеся в семенах и проростках. Первоначально предполагали, что они защищают семена и проростки от почвенных патогенов. Гены некоторых растительных дефензинов были успешно использованы для создания трансгенных растений с повышенной устойчивостью к грибковым и бактериальным патогенам. Другие исследования показали, что растительные дефензины обладают не только антимикробными свойствами, но и регулируют жизненный цикл растений, способствуют росту вегетативных и репродуктивных органов, а также семян.

Несмотря на обширные данные о характере экспрессии генов растительных дефензинов в интактных растениях, функциональная организация промоторов их генов остается слабо изученной в трансгенных растениях. Известно, что на характер экспрессии тканеспецифичных и слабых конститутивных промоторов в трансгенных растениях могут влиять промоторные элементы, используемые для экспрессии селективных генов в области Т-ДНК бинарного вектора (Gudynaite-Savitch et al. 2009; Ivanova and Komakhin, 2024). Известный вирусный промотор CaMV35S, используемый для экспрессии селективных генов, усиливает не только общий уровень экспрессии трансгена, но и конститутивную экспрессию трансгена, даже если тестируемый растительный промотор изначально является только тканеспецифичным. Наблюдалось подобное взаимодействие между тканеспецифичными промоторами растений и другими промоторами из фитопатогенов (*nos* и *mas*), которые используются для контроля селективных генов в бинарных векторах (Gudynaite-Savitch et al. 2009). До настоящего времени почти все промоторные последовательности растений были тестированы в бинарных векторах, использующих промоторные последовательности патогенов растений в области Т-ДНК.

Первоначально антимикробная активность пептида DEFENSIN D1 (ген *Sm-D1*) из семян растения *Stellaria media* была показана *in vitro* (Slavokhotova et al. 2011). В настоящем исследовании для оценки паттерна экспрессии гена *Sm-D1* в *S. media* нами был изучен уровень его мРНК с помощью метода обратной транскрипции. Установили, что экспрессия *Sm-D1* присутствует в листьях, стеблях, корнях и цветках *S. media*. Во всех исследованных органах, кроме цветков, уровень мРНК гена *Sm-D1* был ниже уровня мРНК гена *b-актина*.

Затем из генома растения *S. media* нами была клонирована промоторная область гена *Sm-D1* размером около 800 п.н. Оказалось, геном *S. media* содержит две полиморфные *Sm-D1*-подобные промоторные последовательности. Установили, что один вариант промотора, обозначенный нами как pro-*Sm-D1.2*, принадлежит известному гену *Sm-D1.2* (Slavokhotova et al. 2011). Вторая версия промотора была условно обозначена нами как pro-*Sm-D1.0*.

Для выяснения функциональной организации промоторов pro-*Sm-D1*, был выполнен их делеционный анализ с помощью усечения последовательности с 5'-конца. Для каждого растительного промотора создали три 5'-делеционных варианта разной длины. Сначала использовали каждый вариант для контроля экспрессии репортерного гена *uidA* в векторе pCAMBIA и использовали плазмиду pCAMBIA, в которой

репортерный ген *uidA* находится под контролем промотора CaMV35S в качестве положительного контроля. Полученные конструкции ввели в листья растений *N. benthamiana* с помощью инфильтрации *A. tumefaciens* и измерили активность GUS. Установили, что наиболее эффективные 5'-делеционные варианты pro-Sm-D1.0 и pro-Sm-D1.2 в векторе pCAMBIA продуцировали 113 и 200% активности GUS продуцируемой под действием промотора CaMV35S в pCAMBIA. Затем, используя эти конструкции, создали трансгенные растения *A. thaliana*. Установили, что все варианты растительных промоторов способны стимулировать продукцию GUS во многих тканях и на разных стадиях развития трансгенных растений *A. thaliana*, за исключением пыльников, лепестков и пестиков. Количественный анализ активности GUS в листьях показал, что наиболее эффективные 5'-делеционные варианты pro-Sm-D1.0 и pro-Sm-D1.2 в векторе pCAMBIA продуцировали 74 и 223% активности GUS продуцируемой промотором CaMV35S в векторе pCAMBIA. В целом, в трансформированных растениях экспрессия *uidA* под управлением обоих промоторов pro-Sm-D1 в векторе pCAMBIA преобладала в вегетативных тканях и была на высоком уровне. Это противоречит нашим транскрипционным исследованиям *S. media*, согласно которым экспрессия гена *Sm-D1* преобладала в цветках. Предположили, что высокоэффективная продукция GUS в вегетативных тканях растений при использовании промоторов pro-Sm-D1 может быть результатом влияния последовательности энхансера 2× CaMV35S, используемой для экспрессии селективного маркера в pCAMBIA. Поэтому, дополнительно оценили эффективность промоторов pro-Sm-D1 для экспрессии *uidA* без энхансерной последовательности 2× CaMV35S в составе Т-ДНК. Для этого заменили последовательность 2× CaMV35S, использованную для экспрессии селективного гена, фрагментом кодирующей области гена *lacZ* из генома *E. coli* в плазидах pCAMBIA, несущих промоторы pro-Sm-D1.0, pro-Sm-D1.2 и CaMV35S. Затем внесли новые конструкции без 2× CaMV35S в листья растений *N. benthamiana* с помощью Agrobacterium-опосредованной инфильтрации и измерили активность GUS. Новая конструкция с промотором CaMV35S для управления *uidA* продуцировала 87% активности GUS по сравнению с первоначально использованной pCAMBIA. Новые конструкции с промоторами pro-Sm-D1.0 и pro-Sm-D1.2 продуцировали на порядок меньшую активность GUS по сравнению с первоначально разработанными конструкциями. Следовательно, последовательность 2× CaMV35S, предназначенная для управления селективным геном в составе Т-ДНК, усиливает эффективность промоторов pro-Sm-D1.0 и pro-Sm-D1.2 для продукции GUS.

Таким образом, для наиболее полной оценки промоторных свойств pro-Sm-D1 их последовательности должны быть функционально валидированы в бинарных векторах, не содержащих промоторной последовательности CaMV35S в области Т-ДНК. Промоторы pro-Sm-D1 в бинарных векторах, которые содержат CaMV35S для управления селективным маркером в области Т-ДНК, целесообразно применять для продукции рекомбинантных белков в вегетативных тканях растений на более высоком уровне.

Работа выполнена при поддержке государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (ФГУМ-2022-0004).

#### Список литературы:

1. Ivanova L.A., Komakhin R.A. Efficiency of the alpha-hairpinin *SmAMP-X* gene promoter from *Stellaria media* plant depends on selection of transgenic approach. *Transgenic Res* 2024. 33, 1–19.
2. Gudynaite-Savitch L. et al. Strategies to mitigate transgene-promoter interactions. *J Plant Biotechnol* 2009. 7:472-485.
3. Slavokhotova A.A. et al. Isolation, molecular cloning and antimicrobial activity of novel defensins from common chickweed (*Stellaria media* L.) seeds. *Biochimie* 2011. 93(3):450-6.

# КАСПАЗОПОДОБНЫЕ БЕЛКИ КАК МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ РАЗВИТИЯ АЭРЕНХИМЫ В КОРНЯХ ЯЧМЕНЯ (*HORDEUM VULGARE L.*) В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ

Янушкевич М. А., Тугбаева А. С., Киселёва И. С.

ФГАОУ ВО Уральский федеральный университет им. Б.Н. Ельцина  
(ФГАОУ ВО УрФУ), Екатеринбург 620026;  
E-mail: maria.yanushkevich7@gmail.com

Переувлажнение почв является одним из стрессовых факторов, воздействующих на рост и развитие растений. Так, в условиях затопления корневая система испытывает дефицит кислорода, т. е. подвергается гипоксии. Многие растения имеют механизмы, позволяющие снизить влияние гипоксии и снабдить кислородом затопленные ткани. Одним из таких приспособлений является аэренхима - это особая ткань, которая содержит увеличенные газовые пространства по сравнению с обычными межклеточными пространствами и служит для проведения кислорода от наземных частей растения к кончику корня [1, 2]. Выделяют различные типы аэренхимы, образующиеся разными путями, однако в этой работе мы остановимся именно на аэренхиме ячменя, которая является лизигенной индуцируемой. Она формируется путём программируемой клеточной смерти, и ее развитие индуцируется гипоксией [3]. Хотя известны некоторые сигнальные пути [1, 4], приводящие к апоптозу при формировании аэренхимы, молекулярные механизмы, регулирующие этот процесс мало изучены. Известно, что апоптоз у растений запускается и регулируется каспазоподобными белками, которые функционально подобны каспазам животных.

Ферменты вакуолярного процессинга (Vacuolar processing enzymes (VPE)) [5, 6],  $\beta$ -субъединица 26S протеасомы [7], субтилизиноподобные сериновые протеазы - фитаспазы [8] обладают каспазоподобной активностью, что было подтверждено в экспериментах на ячмене и других растениях. Целью нашего исследования является выявление каспазоподобных белков, принимающих участие в регуляции апоптоза в корне при формировании аэренхимы.

## Методы:

Растения ячменя *Hordeum Vulgare L.* (Сорт памяти Чепелева), выращивали в гидропонных установках на растворе Хогланда. Корни опытных образцов находились в условиях гипоксии за счет погружения в раствор, а раствор контрольной группы обеспечивался достаточным уровнем кислорода за счет аэрации. На 7 день культивирования осуществляли забор проб. Все растения изымали, отделяли корень от побега. Корень разделяли на следующие зоны: на базальную (1 см), среднюю (1 см) и апикальную (7 мм от кончика корня) зоны. Ткани фиксировали, после чего из них выделяли тотальную РНК, по ней синтезировали кДНК, экспрессию определяли при помощи qPCR и ПЦР с разным количеством циклом с последующим разделением продуктов в геле. Для анализа было выбрано 11 генов каспазоподобных белков ячменя, из них 7 генов VPE, ген  $\beta$ -субъединицы 26S протеасомы, 3 гена фитаспаз.

Мы произвели обработку транскриптомных данных, взятых из базы данных GEO NCBI, идентификатор транскриптома в базе данных: GSE220532. Данные соответствуют эксперименту по влиянию переувлажнения на пять сортов ячменя. Мы выявили дифференциально экспрессирующиеся гены и поострили по ним генные сети при помощи базы данных STRING.

## Результаты и обсуждения:

В ходе работы мы проанализировали экспрессию 11 каспазоподобных белков ячменя и выяснили, что 2 из них достоверно экспрессируются в корне. Ген, кодирующий  $\beta$ -субъединицу протеасомы (PBB), значительно повышает свою экспрессию при гипоксии



в базальной части, средней части и апикальной части корня. Наиболее значительное увеличение экспрессии происходило в базальной части корня – зоне, где образуется аэренхима и происходит клеточная смерть. Это подтверждает литературные данные, предполагающие, что протеасома проявляет каспазоподобную активность. Также эти данные показывают, что ген РВВ предположительно можно использовать в качестве молекулярно-генетического маркера развития аэренхимы в корне ячменя.

Ген, кодирующий фермент вакуолярного процессинга VPE3, экспрессируется в корне ячменя в нормальных условиях, однако его экспрессия значительно снижалась в условиях гипоксии, особенно это заметно в базальной и средней частях корня, однако в апикальной части экспрессия снижается незначительно. Предположительно, это связано с тем, что ген VPE3 участвует в нормальных физиологических процессах и не регулирует ПКС при стрессе.

Анализ транскриптома показал, что при переувлажнении меняется экспрессия многих генов. В первую очередь это гены, ассоциированные с ответом на гипоксию и на другие виды стресса. Также меняется экспрессия генов, кодирующих белки, участвующие в превечном и вторичном метаболизме: усиливается экспрессия генов, кодирующих ферменты гликолиза и глюконеогенеза, а также ферменты многих других метаболических путей, включая синтез аминокислот и различных вторичных метаболитов, данные гены образуют крупный кластер в геномной сети. Увеличение синтеза ферментов гликолиза показывает важность анаэробного обмена при гипоксии. Эти результаты показывают значимость приспособления организма к стрессу на биохимическом уровне.

В заключении можно сказать, что при гипоксии и развитии аэренхимы меняется экспрессия множества генов, однако из этого множества можно выделить гены, которые будут являться маркерами развития аэренхимы, и, как мы выяснили в ходе нашего исследования, одним из таких генов является ген, кодирующий  $\beta$ -субъединицу протеасомы (РВВ).

#### **Список литературы:**

1. Yamauchi T. et al. Aerenchyma formation in crop species: A review // *Field Crops Research*. – 2013. – V. 152, №5. – P. 8–16.
2. Иванов Р. С., Тимергалина Л. Н., Федяев В. В. и др. Влияние гипоксии на формирование аэренхимы и рост растений пшеницы // *Экобиотех.* – 2022. – Т. 5, № 2. – С. 69–75.
3. Evans D. E. Aerenchyma formation // *New Phytologist*. – 2004 – V. 161, № 1. – P. 35–49.
4. Woltering E. J., van der Bent A., Hoeberichts F. A. Do Plant Caspases Exist? // *Plant Physiology*. – 2002. – V. 130, № 4. – P. 1764–1769.
5. Kuroyanagi M. et al. Vacuolar processing enzyme is essential for mycotoxin-induced cell death in *Arabidopsis thaliana* // *The Journal of Biological Chemistry*. – 2005. – V. 280, № 38. – P. 32914–32920.
6. Julián I. et al. Phylogenetically distant barley legumains have a role in both seed and vegetative tissues // *Journal of Experimental Botany*. – 2013. – V. 64, № 10. – P. 2929–2941.
7. Tran V. et al. Caspase-Like Activities Accompany Programmed Cell Death Events in Developing Barley Grains // *PLOS ONE*. – 2014. – V. 9, № 10. – P. 109–426.
8. Vartapetian A. B. et al. A plant alternative to animal caspases: subtilisin-like proteases // *Cell Death and Differentiation*. – 2011. – V. 18, № 8. – P. 1289–1297.

**СЕКЦИЯ  
«КЛЕТОЧНЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ, РЕГУЛЯТОРЫ РОСТА И РАЗВИТИЯ  
РАСТЕНИЙ»**

## ВЛИЯНИЕ ЦИТОКИНИНОВ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ *LYCIUM RUTHENICUM* MURR.

Абдирахимова С.Ш., Тураев О.С.

Научно-исследовательский институт генетических ресурсов растений,  
Ташкент 100140;

E-mail: sayoraabdirahimova@gmil.com

В последние годы исследования в области введения растений в культуру *in vitro* получили широкое распространение. Методы микроклонального размножения предоставляют возможность получать растительную продукцию с высокой биологической ценностью и исследовать перспективные направления в этой области. Ключевыми преимуществами размножения растений *in vitro* являются высокая скорость процесса, генетическая однородность получаемого материала, его высокое качество, а также возможность получения безвирусной рассады из семян.

Рода *Lycium* L. уже много лет являются объектом внимания ученых всего мира, изучающих их биологические особенности и морфо-физиологическое развитие. Высокая лекарственная ценность веществ, выделяемых из этих растений, их устойчивость к стрессам и всемирная известность плодов делают представителей этого семейства особенно ценными. Микроклональное размножение видов рода *Lycium* L. *in vitro* активно изучается многими исследователями, предлагающими и тестирующими различные подходы [1, 2, 3, 4, 5, 6].

Семена *L. ruthenicum*, посеянные *in vitro*, начали прорастать через 14 суток, сформировав проростки длиной 1-2 см. На втором этапе исследования роста и развития *L. ruthenicum* *in vitro* экспланты с удаленными листовыми пластинками различного размера (10-15 мм) были перенесены на питательную среду, содержащую 6-бензиламинопурин (БАП) в концентрациях 1, 0.5, 0.1 и 0.05 мг/л. Успешное прорастание и дальнейшее развитие растений подтверждает правильность выбора питательной среды и метода стерилизации, а также обеспечивает исходный материал для последующих этапов введения растений в культуру.

Через 30 дней культивирования было зарегистрировано количество узлов и почек на эксплантах, а также длина побегов. Общее количество узлов, полученных из одного экспланта в конце каждого цикла субкультивирования, отражает потенциальное количество эксплантов для начала нового цикла размножения. Это было рассчитано с помощью коэффициента размножения (КР), который представляет собой произведение среднего числа побегов на эксплант и среднего числа узлов на побег.

Для стимуляции размножения побегов использовали четыре концентрации БАП, а в качестве контроля – гормон-свободную среду. Концентрации БАП от 0,05 до 1 мг/л обеспечили значения КР от 2,4 до 21,42. При этом концентрация БАП 0,05 мг/л стимулировала органогенез новых узлов, показала наилучшее размножение и не привела к образованию каллуса. Более высокие концентрации БАП (1, 0.5, 0.1 мг/л) способствовали снижению развития побегов и образованию каллуса у основания эксплантов.

Полученные результаты согласуются с данными предыдущих исследований, в которых БАП был признан эффективным цитокинином для размножения побегов видов рода *Lycium* *in vitro* [5,7].

В результате исследования было установлено, что оптимальной питательной средой для получения большого количества полноценных побегов *L. ruthenicum* в условиях *in vitro* является среда WPM, дополненная 0,05 мг/л БАП и 20 г/л сахарозы. Кроме того, была выявлена чувствительность *L. ruthenicum* к фитогормону в составе выбранной питательной среды, что важно для эффективного микроразмножения и выращивания этого вида.

### Список литературы:

1. Cristian S , Gianmarco S, Federico M, Eddo R, Valerio C. Micropropagation and Ex Vitro Rooting of Wolfberry // HortScience 53(10):1494–1499. 2018.
2. Manal El-salato Ala El-naby Ahmed. *In vitro* propagation and improving accumulation of coumarin in *Lycium barbarum*, a rare plant in the flora of Egypt. // Bulletin of the National Research Centre (2022) 46:220 p.1-14 <https://doi.org/10.1186/s42269-022-00881-2>
3. Osman, N.I., A. Awal, N.J. Sidik, and S. Abdullah. 2013b. In vitro regeneration and antioxidant properties of *Lycium barbarum* L. (goji). J.Teknologi 62:35–38.
4. Prudente D. O., de Souza L.B., Paiva R., Domiciano D, Carvalho P.A., Nery F.C. Goji berry (*Lycium barbarum* L.) in vitro multiplication improved by lightemitting diodes (LEDs) and 6-benzylaminopurine. In Vitro Cell Develop Biol Plant 55:258–264 (2019)
5. Tabăra M., Ciorchină N., Trofim M., Cutcovschi Muștuc A., Influența regulatorilor de creștere asupra procesului de multiplicare la specia *Lycium barbarum* L. Conferința științifico-practică „Instruire prin cercetare pentru o societate prosperă” consacrată jubileului „90 de ani ai Facultății Biologie și chimie”, Chișinău 2020 pp. 221- 228. ISBN 978-9975-76-307-3
6. Wang W., Liu J., Wang H., Li T., Zhao H. A highly efficient regeneration, genetic transformation system and induction of targeted mutations using CRISPR/Cas9 in *Lycium ruthenicum*. // Plant Methods (2021) 17:71 p. 1-10 <https://doi.org/10.1186/s13007-021-00774-x>
7. Fira, A., N. Joshee, V. Cristea, M. Simu, M. Harta, D. Pamfil, and D. Clapa. 2016. Optimization of micropropagation protocol for Goji berry (*Lycium barbarum* L.). Bull. Univ. Agr. Sci. Veterinary Med. Cluj-Napoca. Hort. 73:141– 150.
8. Седун Е.А., Абдирахимова С.Ш., Зубарев А.В., Спиридович Е.В., Решетников В.Н., Шеримбетов С.Г., Назирова Э.Р. Изучение роста и развития семян Дerezы русской (*Lycium ruthenicum* Murr.) в лабораторных условиях и в культуре *in vitro*. // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук. 2021. Т. 60, №2. С. 176-185

### ВЛИЯНИЕ ЗООГУМУСА НА ПРОДУКТИВНОСТЬ ШАФРАНА (*CROCUS SATIVUS* L.)

Хужамшукуров Н.А.<sup>1,4</sup>, Рузметова Н.К.<sup>2</sup>, Жураев Г.Н.<sup>3</sup>, Абдиназаров С.Х.<sup>4</sup>

1 – Ташкентский химико-технологический институт (ТХТИ), Ташкент,  
100013, Узбекистан. E-mail: [nkhujatshukurov@mail.ru](mailto:nkhujatshukurov@mail.ru)

2 – Хорезмская академия Маъмуна, Хорезмская область, Хива, 220900, Марказ,  
1. Узбекистан,  
E-mail: [nodira.ruzmetova@bk.ru](mailto:nodira.ruzmetova@bk.ru)

3 – Ташкентского ботанического сада имени академика Ф.Н.Русанова при  
Институте ботаники АНР Уз, Ташкент, Богишамол-232б, 100140, Узбекистан.  
E-mail: [abdinazarovsodiqjon@uzbbg.uz](mailto:abdinazarovsodiqjon@uzbbg.uz)

4 – Научно-производственный центр по выращиванию и переработке  
лекарственных растений, Ташкент, Олтинтопган-15. Узбекистан.  
E-mail: [shifobaxsh\\_export@mail.ru](mailto:shifobaxsh_export@mail.ru)

В последние годы выращивание шафрана в плантационном стиле получило широкое распространение, и одной из следующих задач является выращивание шафрана на основе принципов органического сельского хозяйства [Fallahi et al., 2021]. Из научных источников известно, что шафран, выращенный на основе органических принципов, обладает высокой степенью удержания основных веществ, при этом важное значение имеют количество цветков, длина рыльцев в цветках и его сухая масса [Latif et al., 2022]. Также, насколько многого может достичь растение, специализированного для

выращивания на основе новых органических удобрений объясняется образованием побегов, изменением корневой системы, количеством и длиной листьев, а также хлорофиллостатическими свойствами шафрана [Seyyedi et al., 2018]. Проводят масштабные исследования влияния шафрана на его качество и продуктивность при выращивании на основе минеральных и биологических удобрений различного состава [Azari et al., 2023]. В частности, с каждым днём возрастает внимание к практическим исследованиям по выращиванию шафрана на основе органического земледелия [Chamkhi et al., 2023]. Но однако недостаточное внимание уделяется нетрадиционным биологическим удобрениям. В частности, в последние годы недостаточно проводятся научно-исследовательских работ по обогащению органического состава почвы с помощью зоогумуса, получаемого на основе питательных насекомых, повышению продуктивности лекарственных растений на основе этого зоогумуса, а также определение параметров максимальной сохранности основного вещества. Поэтому основной целью данной исследовательской работы было определение оптимальных регуляторных концентраций зоогумуса, полученного из питающегося насекомом *Tenebrio molitor*, используемого при выращивании шафрана.

Основной целью исследования было определение влияния зоогумуса на продуктивность шафрана по сравнению с биогукусом. Результаты выбора оптимальной концентрации для выращивания шафрана с зоогумусом, полученным на основе личинок *Tenebrio molitor*, и биогукусом, приготовленным на основе навоза крупного рогатого скота, представлены на рисунках 1-5. В предварительных исследованиях определяли процесс побегообразования шафрана, приготовленного образца высаженных в 5 л субстрата.

При анализе полученных результатов было отмечено, что изучаемые шафраны при условной концентрации биогукуса 50 г/5л (контрольный) образовывали в среднем 3,48 побегов, средняя влажная масса побегов составила 16,44 грамм, сухая масса побегов составила 3,78 грамма. Было отмечено, что среднее количество листьев шафрана, выращенного на основе биогукуса, составило 6,64 штук, а средняя длина листьев - 23,31 см. Установлено, что среднее количество побегов шафрана составило 3,13 штук, влажная масса побегов - 16,23 грамма, сухая масса побегов - 3,73 грамма. При сравнении этих показателей с контрольным было отмечено, что количество побегов при концентрации 10 г/5 л зоогумуса достоверно не различалось (0,35 шт.), влажная масса побегов - 0,212 граммов, а сухая масса побегов на 0,048 грамм тяжелее. Также отмечено, что количество листьев шафрана, выращенного в зоогумусе 10 г/5 л, составило 5,56 штук по сравнению с контрольным на 1,08 штук меньше, длина листьев - на 23,24 см, что на 0,07 см меньше контрольного. Таким образом, было замечено, что хотя количество листьев и длина шафрана существенно не различались в зоогумусовом субстрате по сравнению с субстратом на основе биогукуса, количество побегов различалось существенно, однако субстрат на основе зоогумуса показал относительно более высокий показатель по массе побегов.

В ходе наблюдений отмечено, что количество побегов шафрана, выращенных в зоогумусе с концентрацией 20 г/5 л, составило 6,22 штук, влажная масса побегов - 18,41 грамма, сухая масса побегов - 4,60 грамм. Установлено, что среднее количество листьев шафрана, выращенного в зоогумусе 20 г/5 л, составило 9,43 штуки, а средняя длина листьев - 25,43 см. Отмечено, что среднее количество побегов шафрана, выращенных в зоогумусе с концентрацией 30 г/5л, составило 6,32 штук, масса влажных побегов - 18,42 грамм, масса сухих побегов - 4,6050 грамма, среднее количество листьев составило 9,48 штук, длина листьев равна 25,43 см. Определено, что среднее количество побегов шафрана, выращенных в зоогумусе с концентрацией 40 г/5л, составило 6,14 штук, масса влажных побегов - 18,41 грамма, масса сухих побегов - 4,6025 грамм, среднее количество листьев составило 9,08 штук, также средняя длина листьев - 25,42 см. При сравнении этих результатов с контрольным было отмечено, что среднее количество побегов было на 2,66

штук больше, масса влажных побегов - 1,97 грамма, а масса сухих побегов - на 0,82 грамм больше. По сравнению с контрольным количество листьев было на 2,44 штук больше, а длина листьев составила 2,11 см.

При сравнении результатов шафранов, выращенных на зоогумусовых субстратах с концентрацией 60-100 г/5л по сравнению с контрольным и на основе зоогумусовых субстратах с концентрациями 10г/5л, 20г/5л, 40г/5л и 50г/5л наблюдалось поэтапное снижение результатов. Таким образом, результаты, полученные по образованию побегов, массе побегов, количеству и длине листьев при выращивании шафрана на основе зоогумуса, показали, что оптимальная концентрация зоогумуса в субстрате составляет 30 г/5л.

### **Список литературы**

1. Fallahi H., Behdani M.A., Moghaddam P.R., Al-Ahmadi M.J. 2021. Principles of standardization for organic saffron production in Iran. *Saffron agronomy and technology*. Vol.9, Issue 1 (31). Pp. 43-79. <https://doi.org/10.22048/jsat.2020.236760.1402>
2. Latif S., Zargar M.Y., Nehvi F.A., Ajaz M., Ahmad M.S. 2022. Production of organic Saffron (*Crocus sativus*) using biofertilizer and vermicompost. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 92 (12). Pp.1520-1523. <https://doi.org/10.56093/ijas.v92i12.119531>
3. Seyyedi S.M., Ebrahimian E., Rezaei-Chiyaneh E. 2018. Saffron daughter corms formation, nitrogen and phosphorous uptake in response to low planting density, sampling rounds, vermicompost and mineral fertilizers. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 49(5). Pp. 585-603. <https://doi.org/10.1080/00103624.2018.1432634>
4. Azari S. J., Sorooshzadeh A., Nabati J., Oskoueian E. 2023. Relationship between fertilization and planting depths on antioxidant activity in saffron (*Crocus sativus* L.). *Industrial Crops and Products* 191(Part A):116004. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.116004>
5. Chamkhi I., Sbabou L., Aurag J. 2023. Improved growth and quality of saffron (*Crocus sativus* L.) in the field conditions through inoculation with selected native plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Industrial Crops and Products*, Vol. 197 (3-4). Pp. . <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.116606>

## **КУЛЬТУРА КЛЕТОК ОБЫКНОВЕННОЙ ЗЛАКОВОЙ ТЛИ (*SCHIZAPHIS GRAMINUM* R.) КАК СУБСТРАТ ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ОБЛИГАТНЫХ ЭНДОСИМБИОНТОВ ТЛЕЙ – *BUCHNERA APHIDICOLA***

**Голиванов Я.Ю.**

***ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская 42,  
E-mail: iab@iab.ac.ru***

В настоящее время увеличивается интерес к культурам клеток насекомых, так как они являются удобными моделями для проведения различных исследований. Например, клетки насекомых используются для воспроизведения вирусов, передаваемых насекомыми [1], или для получения мультимерных белков, функционально эквивалентных естественным белкам. Некоторые клеточные линии насекомых подходят для производства векторов для клеточной терапии. Системы клеток насекомых часто используют для получения рекомбинантных белков [2]. А также актуальным вопросом является изучение эндосимбиотических организмов, которые, как правило, не культивируются без клеток хозяина.

Изучение взаимоотношений насекомых и их эндосимбионтов в настоящее время ведется в рамках концепции хологенома. Хологеном – совокупность наследственных

факторов эукариотического хозяина и населяющих его микросимбионтов [3]. Количественная оценка размера, структуры популяций эндосимбионтов, а также их влияния на организм хозяина является сложной задачей, поскольку эндосимбионты, как правило, трудно или невозможно культивировать, и они обычно полиплоидны [4].

Внутриклеточные симбиотические бактерии способны: повышать устойчивость тлей к тепловому шоку, к паразитоидным осам, грибковым инфекциям, участвовать в выработке необходимых для хозяина питательных веществ совместно с облигатным симбионтом, способствовать взаимодействию тлей с растением, на котором они питаются [5].

У тлей наблюдается сложная взаимосвязь с бактериями-эндосимбионтами. Таким примером служит облигатный эндосимбионт *Buchnera aphidicola* с которым у тлей совместная эволюция длится уже более тысячи лет. Эти бактерии обеспечивают хозяина аминокислотами, в том числе незаменимыми, и способствуют росту и активному размножению тлей. В геноме *Buchnera* присутствуют гены, кодирующие ферменты синтеза аминокислот, которые необходимы для жизнедеятельности организма хозяина. Однако при этом *Buchnera* лишены многих генов репарации ДНК и рекомбинации, а также большинства  $\sigma$ -субъединиц РНК-полимеразы [6].

Внутри организма тлей бактерии *Buchnera* находятся в специализированных структурах – бактериоцитах, которые представляют собой клетки, содержащие эндосимбиотические и способные объединяться в специализированный орган – бактериому. Бактериоциты в зависимости от вида насекомого и типа эндосимбионта находятся в жировых телах внутри эпителия средней кишки, что облегчает поглощение питательных веществ, а также в гемокоэле – кровосодержащей полости между органами насекомого, это нужно учитывать при заборе клеток из тлей.

Целью исследования являлось получение культуры клеток обыкновенной злаковой тли с последующей культивацией в них бактерий Бухнера.

Клетки отбирались из тлей, содержащихся по оригинальной методике [7], на проростках ячменя, в рамках исследований по устойчивости растений [8, 9, 10]

Клетки культивировали на классической среде для клеточных культур насекомых – среде Грейса, а также на среде Мицукаши и Марамош.

Культуру поддерживали в культуральных флаконах объемом 5 мл с доступом кислорода, в перемешивающемся объеме, скорость вращения платформы 50 об/мин, температура 27,5 °С.

Клетки выделяли из целого насекомого по оригинальной методике.

После получения чистой культуры клеток обыкновенной злаковой тли из различных образцов была выделена тотальная ДНК по протоколу выделения ДНК из клеток животных, для установления наличия или отсутствия в клетках бактерий.

Оптимальными условиями стерилизации *Schizaphis graminum* можно считать 30-секундную выдержку насекомых в этиловом спирте с последующей промывкой в дистиллированной воде и сушкой в ламинар-боксе. Для выделения клеток *S. graminum* рекомендуется ручная гомогенизация в 200 мкл среды, последующее центрифугирование и перенос материала на питательную среду. Оптимальными условиями культивирования являются: объем питательной среды 4 мл, температура 27,5 °С и доступ кислорода к культуре клеток. В отобранных образцах бактерии Бухнера не были обнаружены.

### Список литературы

1. Korn, J., Schäckermann, D., Kirmann, T. et al. Baculovirus-free insect cell expression system for high yield antibody and antigen production. *Sci Rep* 10, 21393 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78425-9>
2. Drugmand JC, Schneider YJ, Agathos SN. Insect cells as factories for biomanufacturing. *Biotechnol Adv.* 2012 Sep-Oct;30(5):1140-57. doi: 10.1016/j.biotechadv.2011.09.014. Epub 2011 Oct 1.

3. Iltis, C., Tougeron, K., Hance, T., Louâpre, P. and Foray, V. (2022), A perspective on insect–microbe holobionts facing thermal fluctuations in a climate-change context. *Environ Microbiol*, 24: 18–29. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15826>
4. Puri, K.M., Butardo, V. & Sumer, H. Evaluation of natural endosymbiosis for progress towards artificial endosymbiosis. *Symbiosis* 84, 1–17 (2021). <https://doi.org/10.1007/s13199-020-00741-5>
5. Theis K.R., Dheilly N.M., Klassen J.L. et al. Getting the hologenome concept right: a co-evolutionary framework for hosts and their microbiomes // *mSystems*. 2016. № 1(2): e00028-16.
6. Guo J., Hatt S., He K. et al. Nine facultative endosymbionts in aphids. A review. *J. Asia-Pac. Entomol.* 2017. №20. P. 794-801.
7. Учебно-методическое пособие / Я. Ю. Голиванов. – Москва : Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, 2022. – 32 с.
8. Голиванов, Я. Ю. Оценка репродуктивной способности обыкновенной злаковой тли (*Schizaphis graminum* Rondani, 1852) на сортообразцах яровой тритикале (*Triticosecale* Wittm & Camus ) в лабораторных условиях / Я. Ю. Голиванов // Доклады ТСХА, Москва, 03–05 декабря 2019 года. Том Выпуск 292, Часть IV. – Москва: Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, 2020. – С. 96-98.
9. Голиванов, Я. Ю. Оценка заселения злаковыми тлями коллекции сортообразцов яровой тритикале / Я. Ю. Голиванов, С. А. Блинова, В. В. Гриценко // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2021. – № 6. – С. 42-51.
10. Голиванов, Я. Ю. Особенности биологического развития черемухово-злаковой тли (*Rhopalosiphum padi*) в лабораторных условиях / Я. Ю. Голиванов, В. В. Зелененко, В. В. Гриценко // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2021. – № 4. – С. 142-148.

## **ВЫДЕЛЕНИЕ ШТАММОВ TRICHODERMA С ПОВЕРХНОСТИ *PINUS SYLVESTRIS* L. И ИЗУЧЕНИЕ ИХ АКТИВНОСТИ**

**Думачева Е.В., Максимова П.В., Акимов А.В., Гаар А.В.**

**ФГБНУ «Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В.Р. Вильямса» (ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса»), Московская область,  
г. Лобня, Научный городок, корпус 1, 141055;  
E-mail: dumacheva@vniikormov.ru**

Для экосистем различных регионов Российской Федерации особое значение имеет вид *Pinus sylvestris* L. – сосна обыкновенная. Благодаря своим уникальным морфо-биологическим свойствам, способности произрастать на разнообразных почвенных субстратах, культура сосны привлекает внимание исследователей к изучению ее микробиома [1-3]. Хорошо известна способность сосны к симбиозу с полезной почвенной микрофлорой и образованию арбускулярной микоризы, которая генерирует разнообразный микробоценоз [4,5]. Перспективными микромицетами являются представители рода *Trichoderma* sp. С одной стороны, они обладают антагонизмом по отношению к ряду патогенных грибов и микроорганизмов, с другой, показана положительная роль обработки штаммами *Trichoderma* в подавлении патогенной микрофлоры на ряде сельскохозяйственных культур [6-9].

Целью исследования являлось выделение и изучение перспективных микромицетов рода *Trichoderma*, взятых с поверхности различных частей сосны обыкновенной (*P. sylvestris*). Сбор биоматериала для выделения образцов *Trichoderma* проводили с



поверхностей поваленных стволов, ветвей и корней *P. sylvestris* вблизи поселка Ермолино, Дмитровский округ, Московская область (56.137764, 37.484621). Отобранные образцы были помещены в подготовленные влажные камеры, где проходило их культивирование в термостате при температуре 25 °С в течение 48 ч. Выросшие плесневые грибы помещали на твердую питательную среду Сабуро для дальнейшего роста (27 °С, 72 ч.). Для получения биомассы и получения культуральной жидкости со спорами грибов проводили посев в жидкий питательный бульон Чапека и затем культивировали в термостате при температуре 27 °С в течение 96 ч. при постоянном помешивании шейкера 150 об./ мин. В результате были выделены 4 штамма плесневых грибов рода *Trichoderma* со следующими морфологическими признаками: колонии зеленого цвета, пушистые. Штаммам были даны рабочие названия: ТР 1, ТР 3.1, ТР 3.2, и ТР 4. На их основе приготовлены 4 суспензии, состоящие из культуральной жидкости и стерильной воды в соотношении 1:1.

С полученными штаммами плесневых грибов был поставлен эксперимент для оценки их потенциальных фунгицидных свойств. В качестве тест-объекта были использованы кормовые бобы (*Vicia faba* L.). Посев проводили в мини-парниках для рассады, наполненных песком с грунтом в соотношении 2:1. В одну ячейку кассеты помещали по 2 боба. Повторность опыта трехкратная (в одной повторности 12 бобов).

Варианты опыта: контроль (H<sub>2</sub>O), обработка суспензиями из ТР 1, ТР 3.1, ТР 3.2, ТР 4, а также вариант TV – обработка биофунгицидным препаратом на основе *Trichoderma viride* (штамм 471 ГНУ ВНИИСХМ РАСХН, ТМ «Ваше Хозяйство», приготовление раствора выполнено согласно инструкции производителя). Обработку семян бобов перед посевом проводили путем замачивания в растворе определенного штамма в течение 1 ч. Кассеты с семенами помещали в климатическую камеру Фитотрон ЛиА-1 при температуре 20 °С, влажности 60 %, световом периоде 12 ч. Результаты опыта обработаны статистически с использованием пакета программ Excel. На 7-е сутки подсчитывали количество проросших и не проросших семян (%). На 10-е сутки проростки извлекали из грунта, промывали проточной водой и измеряли длину корня (см), гипокотилия (см) и массу проростков (г), а также оценивали степень пораженности (балл 0 – отсутствие поражения; 5 – обширное поражение плесневыми грибами).

На 7-е сутки доля проросших семян у контрольного варианта составила – 66,7 %; у опытных вариантов изменялась от 38,9 % у TV до 86,1 % у ТР 4, что превысило контрольный вариант на 19,4 %.

На 10-е сутки длина корня проростков у контрольного варианта составила 8,9±3,1 см (Cv= 43,0 %), у опытных вариантов длина корня уступала контролю на 0,2-5,2 см или на 2,5-58,3 %, при Cv=43,0–53,6 %. Длина гипокотилия у проростков бобов составила у контроля – 18,7±5,3 см (Cv=35,0 %), вариант с обработкой суспензией ТР 3.1 превышал контроль на 1,6 см (8,4 %), при Cv=17,9 %, а остальные уступали контролю на 1,6–3,6 см (8,4–15,7 %) при Cv=33,2–51,1 %. Масса проростков составила у контроля – 3,2±0,7 г (Cv=19,6 %), варианты с обработкой суспензиями уступали контролю на 0,16–0,8 г (5,0–17,6 %) при Cv=22,4–32,3 %. Достоверных различий по показателям роста и массе проростков между вариантами не установлено.

При оценке степени пораженности установлено, что наиболее эффективно подавляли патогенные микроорганизмы, находящиеся на поверхности семян суспензии штаммов ТР 1, ТР 3.1, ТР 3.2 и биофунгицидный препарат *Trichoderma viride* (штамм 471). В вариантах Т 4 и контрольном проростки были обширно поражены патогенными плесневыми грибами. Учитывая выявленную антагонистическую активность выделенных штаммов *Trichoderma* против патогенных бактерий и грибов, планируется продолжить их изучение в серии как лабораторных, так и полевых экспериментов на различных сельскохозяйственных культурах.

Исследования выполнены при поддержке Нацпроекта «Наука и университеты» на создание молодежной лаборатории в рамках Госзадания FGGW-2022-0013 «Разработка теоретических основ ускорения интродукции, селекции и повышения эффективности

семеноводства сельскохозяйственных растений на основе оценки сопряженности фундаментальных физиологических процессов».

#### **Список литературы:**

1. Kosolapov V. M., Cherniavskih V. I., Dumacheva E. V. et al. Using microorganismal consortium and bioactive substances to treat seeds of two scots pine ecotypes as a technique to increase re-forestation efficiency on chalk outcrops // *Forests*. 2023. Vol. 14, No. 6. P. 1093.
2. Kosolapov V. M., Cherniavskih V. I., Dumacheva E. V. et al. Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.) Ecotypes Response to Accumulation of Heavy Metals during Reforestation on Chalk Outcrops / *Forests*. 2023. V. 14, № 7. P. 1492.
3. Cherniavskih V. I., Dumacheva E. V., Markova E. I. Assessment of the state and restoration of biological resources of scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in the south of the central Russian // *Journal of Physics: Conference Series* : 6, Moscow, 23–27.11.2020. Moscow, 2021. P. 012080.
4. Rieksts-Riekstiņš R., Zeltiņš P., Baliuckas V. et al. *Pinus sylvestris* breeding for resistance against natural infection of the fungus *Heterobasidion annosum* // *Forests*. 2020. Vol. 11, No. 1. P. 23.
5. Wang D. D. et al. Diversity of microbial communities of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* at spatial scale // *Microorganisms*. 2022. V. 10, No. 2. P. 371.
6. Oros, G. And Naár, Z. Mycofungicide: Trichoderma Based Preparation for Foliar Applications // *American Journal of Plant Sciences*. 2017. No. 8. P. 113–125.
7. Buysens C. et al. Inoculation of *Medicago sativa* cover crop with *Rhizophagus irregularis* and *Trichoderma harzianum* increases the yield of subsequently-grown potato under low nutrient conditions // *Applied Soil Ecology*. 2016. V. 105. P. 137–143.
8. Скамарохова А. С., Юрина Н. А., Гнеуш А. Н. Биоудобрение для повышения урожайности зеленой массы вико-пшеничной травосмеси // *Международный научно-исследовательский журнал*. 2021. №. 7–1 (109). С. 137–140.
9. Чекалова К. В. Разработка новой препаративной формы биологических фунгицидов на основе клеток микроорганизмов *Trichoderma viride* и *Pseudomonas fluorescens*. Дисс. на соиск... к.с.-х.н. М., 2007. 162 с.

### **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДОВ ПОЛУЧЕНИЯ ЧИСТЫХ ЛИНИЙ ДЛЯ ОЗИМОЙ ТВЁРДОЙ ПШЕНИЦЫ**

**Бизякина Д.О.<sup>1</sup>, Нагамова В.М.<sup>1</sup>, Алкубеси М.<sup>1,2</sup>, Радзенице С.Б.<sup>1</sup>,  
Рубец В.С.<sup>1</sup>, Блинков А.О.<sup>1</sup>, Дивашук М.Г.<sup>1</sup>**

**1 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт  
сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550;  
E-mail: [dasha.biz@mail.ru](mailto:dasha.biz@mail.ru)**

**2 – ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет - МСХА  
имени К.А. Тимирязева» (ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева),  
Москва 127434**

Получение чистых линий - важный этап в селекционной практике. Основные биотехнологические методы их получения - культура изолированных пыльников, микроспор и завязей, и использование гаплопродюссера. Твёрдая пшеница (*Triticum durum* Desf) является сложной культурой для биотехнологических работ. Генотип-зависимость и высокая частота регенерации растений-альбиносов являются основными проблемами при работе. Проблемой является и низкая частота формирования многоклеточных структур. Однако, недавно разработанный подход ускоренной вегетации стал аналогом в плане

скорости методам биотехнологии. В связи с этим *целью* данной работы стало провести сравнительную характеристику классических методов клеточной биотехнологии и спидбридинга (Speed Breeding). Для определения какой из методов является более быстрым и эффективным.

Исследования по получению чистых линий проводили на основе озимой твёрдой пшеницы генотипов Цель, Кордон и 3596h56. Были применены методы клеточной биотехнологии: культура изолированных пыльников, культура изолированных завязей, селективная элиминация хромосом. При культивировании изолированных пыльников проводили оценку подходящих питательных сред (190-2, Potato II, MC17, BAD-1), длительности холодной предобработки и эффективности холодо-осмотического шока в маннитоле. Была обнаружена низкая результативность данного метода в получении чистых линий: в общей сложности получены около 400 многоклеточных структур, из которых в большей степени регенерировали растения-альбиносы и единичные зелёные растения. Культивирование изолированных завязей оказалось неэффективным: не было получено каллуса и растений регенерантов. Селективная элиминация хромосом показала высокую эффективность для получения удвоенных гаплоидов: были получены несколько хлорофильных гаплоидных растений генотипа Цель. У генотипов Кордон и 3596h56 в ходе опыления кукурузой были получены зерновки, однако изолированные зародыши не регенерировали в полноценные растения.

Для сравнения использовали методы ускоренной яровизации для целей спидбридинга (Speed Vernalization), спидбридинг (Speed Breeding), дополненные культурой изолированных зародышей. Спидбридинг (Speed Breeding) является технологией, которая способствует ускорению вегетации растений. С помощью её применения возможно получать вдвое больше поколений в год. Были проведены эксперименты, включающие в себя оценку разных условий яровизации (температура, интенсивность освещения, длина дня), различные субстраты и размеры горшков, а также условий вегетации.

Для ускоренного получения чистых линий так же оценили возможность использования системы «ускоренной яровизации для целей спидбридинга (Speed Vernalization) + спидбридинг (Speed Breeding)». Был проведён эксперимент по поиску условий яровизации, способствующих быстрому зацветанию и тем самым короткому сроку вегетации у твёрдой пшеницы. Ускоренное выращивание твёрдой пшеницы оказалось наиболее простым и эффективным методом создания чистых линий для данной культуры. Совместное использование эмбриокультуры с технологией спидбридинг (Speed Breeding) способно предоставить гораздо более продуктивные результаты в экономии времени, чем использование их по отдельности.

Исследования выполнены при поддержке Российского Научного Фонда 24-16-00274

## **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ГЕНОТИПОВ ТОМАТА ПО СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO***

**Богоутдинова Л.Р.<sup>1</sup>, Баранова Е.Н.<sup>1,2</sup>, Шелепова О.В.<sup>1,2</sup>, Халилуев М.Р.<sup>1,3</sup>**

***1 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт  
сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550;***

***E-mail: biotech@iab.ac.ru***

***2 – ФГБУН Главный ботанический сад им. Н.В.Цицина РАН, 2. Москва, 127276  
Россия, E-mail: lab-physiol@mail.ru***

***3 – ФГБОУ ВО РГАУ — МСХА имени К. А. Тимирязева, Москва, 127550, Россия,  
E-mail: s.popova@rgau-msha.ru***

Большинство важных продовольственных культур, включая томат, чрезвычайно чувствительны к концентрации соли в почве [1]. Томат (*S. lycopersicum* L.) выращивают в открытых полях в полусухом и сухом климате, где засоление почвы является постоянной проблемой [2]. Целью настоящего исследования являлось сравнительное изучение реакций генотипов *Solanum lycopersicum* L. в условиях хлоридного засоления *in vitro* на клеточном, тканевом, органном и организменном уровнях.

Объектом для исследований были генотипы томата (*Solanum lycopersicum* L.), различающиеся по устойчивости к засолению. Растения культивировали на агаризованной питательной среде Мурасиге-Скуга с добавлением 150 мМ NaCl, опыт включал в себя три повторности по 30 растений в каждой. Для проведения световой микроскопии проводили фиксацию фрагментов листа в 2,5%-ном растворе глутарового альдегида на 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,2) с добавлением 1.5%-ной сахарозы в течение 24 ч. и дофиксировали 1%-ным раствором OsO<sub>4</sub>. Впоследствии образцы обезвоживали и заключали в смесь эпон-аралдитных смол. Площадь клеток определяли с помощью программного обеспечения Cell A, было проанализировано не менее 150 клеток каждого типа ткани от 3х независимых проростков.

По результатам морфометрического исследования установлено влияние хлоридного засоления в условиях *in vitro* на длину и число регенерируемых корней у проростков томата. У солеустойчивого томата сорта Рекордсмен изменения обоих показателей зафиксированы при наибольшей из изученных концентраций соли в питательной среде (250 мМ). Изменение пролина у сорта Рекордсмен наблюдалось при меньшей концентрации хлорида натрия по сравнению с линией ЯЛФ. Существенные различия между генотипами по площади клеток установлены для корня и семядольных листьев. По данным ультраструктурного анализа только у томата линии ЯЛФ на происходят повреждения в клетках обоих типов мезофилла семядольных листьев в ответ на добавление 150 мМ NaCl.

В условиях *in vivo* большая оводненность побегов наблюдалась у сортов Бычье Сердце, Юрьевский и Астраханский, а корней – у сортов Астраханский, Бычье Сердце, Юрьевский и ЯЛФ в ответ на солевой стресс. Выход электролитов, содержание ионов натрия и хлора, изменялись одинаково у всех изученных генотипов.

На основе оценки ответа растений томата на солевой стресс установлены морфометрические, физиолого-биохимические и цитологические показатели для скрининга растений на этапе образования первого настоящего листа.

#### **Список литературы:**

1. Malcolm C.V., Lindley V.A., O'Leary J.W., Runciman H.V., Barrett-Lennard E.G. Halophyte and glycophyte salt tolerance at germination and the establishment of halophyte shrubs in saline environments. *Plant Soil*. 2003. 253. 171–185.
2. Qadir M., Quillerou E., Nangia V., Murtaza G., Singh M., Thomas R.J., Drechsel P., Noble A.D. Economics of salt-induced land degradation and restoration. *Nat. Res. Forum* 2014. 38. 282–295.

## **ПОЛУЧЕНИЕ ПРИВИТОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ОВОЩНОЙ КУЛЬТУРЫ БАКЛАЖАНА (ЛАТ. *SOLÁNUM MELONGÉNA*) ПРИ ПОМОЩИ ТЕХНОЛОГИИ *IN VITRO***

**Виноградов И.А.**

**ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт  
сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСИБ), Москва 127550;  
E-mail: biotech@iab.ac.ru**

Анализируя применяющиеся в настоящее время технологии при выращивании овощных культур, следует отметить, что наиболее перспективными являются высокоинтенсивные культуры с урожайностью близкой к своему биологическому потенциалу, с высоким уровнем качества продукции при помощи современных разработок научно-технического прогресса и с минимальными экологическими рисками. Эти технологии относятся к категории точного земледелия с использованием прецизионных и информационных технологий, современных препаратов. Высокоинтенсивные технологии являют собой качественный скачок в создании сортов, подготовке субстратов и насыщении технологическими операциями.

Соответствующий интерес представляет технология *in vitro*, широко применяемая в плодоводстве и селекции, в качестве производства посадочного материала овощных культур.

Развитие техники и технологий в данных областях, а также возрастающая доступность инструментов и знаний требуют решения вопросов практической значимости, реализованности и внедряемости.

Целью исследования было - получение микроклонально размноженной привитой рассады, с последующей адаптацией к условиям *in vivo*.

Были поставлены следующие задачи:

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1) Микроклональное размножение Баклажана (лат. *Solanum melongéna*), в том числе и для использования микроколонов в качестве подвоев и привоев.

3) Испытание препаратов для улучшения корневой системы регенератов, образования корневых волосков и корней второго порядка, в том числе для использования на подвоях.

4) Прививка растений в условиях ламинарного бокса.

5) Адаптация привитой культуры к условиям *in vivo*.

В работе использовались следующие сорта баклажана: «Альбатрос», «Викар», «Маркиз», «Изумрудный F1», «Пинг-понг», «Толстый барин», «Черный дракон».

При культивировании баклажана в условиях *in vitro* у большинства регенерантов не происходит образования корней второго порядка и корневых волосков, таким образом, формируется специфический «культуральный фенотип» растения, приводящей к дополнительным трудностям с водным обменом при адаптации к *in vivo*. Для решения данной проблемы применялась модификация питательной среды путем добавления препаратов, стимулирующих корнеобразование, «Корневин» и «Гумат».

Стерильные условия ламинарного бокса позволяют наиболее безопасно провести самые опасные моменты операции прививки «срез» и «соединение» привоя и подвоя растений. Применение промежуточной водной среды позволяет нейтрализовать негативное воздействие окружающей среды на тургор растений извлеченных из условий *in vitro*.

У привоя и подвоя должна быть одинаковая толщина стеблей для наилучшего сращивания. Первым этапом, с помощью острого лезвия обрезаем подвой от себя под углом 45°. Наиболее оптимально обрезать подвой под семядольным листом. Стебель должен быть высотой не менее 2 – 3см. При превышении длины растения могут упасть под тяжестью своего веса. Оптимально иметь для избегания заваливания специальные клипсы с отверстием для подпорки. Излишне короткий стебель подвоя может создать проблемы при формировании его корневой системы.

Скрепление двух частей растений производилось при помощи силиконовых клипс, имеющих возможность многократной эксплуатации со стерилизацией и обеспечивающих плотное прилегание срезов.

Оптимальная температура для прививки 22-23°C.

После извлечения растений из *in vitro* и проведения дополнительных операций происходит посадка рассады на подготовленные распространенные сельскохозяйственные субстраты в нашем случае это торфо-грунт и минеральная вата. Посаженные растения помещали в условия Grow Box и тепличные с поддержанием высокого уровня влажности не менее 80%, освещенности — 4,5 тыс. лк, фотопериод — 12 ч, температура — 23 °С (ночь) - 26 °С (день).

Проводить операцию «прививка» было решено с целью получения улучшенной супер-элит рассады, где помимо преимуществ *in vitro* растений было бы реализован высокий коэффициент размножения абсолютно генетически однородного посадочного материала, а также схожесть адаптационных условий растений извлеченных из *in vitro* и привитых саженцев по «Японскому» методу.

По получившимся данным можно сделать вывод о том, что приживаемость растений выше на торфяном субстрате, содержание гуминовых кислот и хорошее соприкосновение с корневой системой способствует адаптации *in vitro* растений. Минеральная вата имеет потенциал к улучшению показателей, при разработке более подходящей технологии.

## **ВЛИЯНИЕ ФИТОГОРМОНОВ ПРИ СПАСЕНИИ ЗАРОДЫШЕЙ ОТ ОТДАЛЕННОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ ТОМАТА И ПАСЛЕНА ГУЛЯВНИКОЛИСТНОГО**

**Вишнякова А.В., Мартиросян А.З., Кобяшова А.Д.**

***ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет - МСХА  
имени К.А. Тимирязева» (ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева;  
E-mail: a.vishnyakova@rgau-msha.ru***

Томат – высоко востребованная овощная культура на мировом рынке, в Россия занимает 12 место в мире по производству этих овощей. В России выращиваются преимущественно грунтовые томаты, объем рынка защищенного грунта практически в 2 раза ниже. Томат – культура подверженная многим заболеваниям таким как фитофтороз, мозаики, корневые, стеблевые и гнили плодов, фузариозное и вертицилезное увядание. Основные методы борьбы с болезнями томатов – это использование системных фунгицидов или создание устойчивых сортов и гибридов. Современные требования к сортам и гибридам промышленного выращивания включают устойчивость минимум к 3-5 заболеваниям, поэтому поиск источников устойчивости к нескольким заболеваниям является перспективным направлением селекции. Паслен гулявниколистный (*Solanum sisymbriifolium*) является источником устойчивости к устойчивости к бактериальному вилту, вертицилезному увяданию, корневым нематодам и карминовым паутиным клещам (Alconero et al. 1988; Collonnier et al. 2003). По нашим наблюдениям при выращивании паслена гулявниколистного в открытом грунте, он проявляет устойчивость к фитофторозу, заболеванию, наносящему огромный ущерб томатам в открытом грунте России. Отдаленной гибридизацией между томатом и пасленом гулявниколистным занимались некоторые исследователи (Bal & Abak, 2003; Piosik et al., 2019). Результаты исследований различны Piosik et al. (2019) получили межвидовые гибриды, путем применения технологии embryo rescue, которые оказались стерильными, Bal & Abak (2003) – растения регенеранты, которые посчитали удвоенными гаплоидами. Цель исследования подобрать оптимальные условия спасения зародышей, полученных от межвидовой гибридизации томата и паслена гулявниколистного.

#### Задачи:

1. изучить влияние фитогормонов на завязываемость плодов и семян при опылении томата пасленом;
2. изучить влияние освещения на развитие зародышей в культуре *in vitro*;
3. подобрать гормональный состав питательных сред для получения проростков.

Материалы и методы: в скрещиваниях участвовали растения паслена гулявниколистного и образцы томата Поз сон 2-6, Поз st 9, st8-3111rin, St6(лик) 612, St6 - 33412, st4-431213. Опыление проводили в утренние часы в стадии лимонно-желтого бутона с предварительной кастрацией. При опылении использовали следующие методы воздействия на рыльце пестика томата доопыление пылью паслена через 24 ч., обработка раствором зеатина за 15 минут и 2 часа до опыления, обработка АБК за 15 минут и 2 часа до опыления. Подсчитывали количество завязавшихся плодов и семян после опыления. Часть плодов оставляли на растении до полного созревания. На этапе введения в культуру *in vitro* было испытано 10 питательных сред разного гормонального состава и консистенции. Зародыши в культуру вводили, начиная с 15 дня после опыления и заканчивали на 47-50 ДПИ у отдельных генотипов. Регенерацию растений осуществляли на питательной среде MS с добавлением сахарозы 20 г/л, ВАР - 0,01 мг/л, ИУК - 0,01 мг/л. Пересадку растений в субстрат осуществляли после полного формирования проростка с корневой системой в грунт Агробалт.

Число завязавшихся плодов варьировало от 12,5 до 68 % в зависимости от генотипа. Реакция на обработку рыльца пестиков фитогормонами была также генотип специфична, однако обработка зеатином и АБК за 15 минут до опыления увеличивала процент завязываемости плодов по сравнению с опылением после 2 часов предобработки. Существенно увеличить завязываемость плодов с помощью фитогормонов удалось для генотипов st8-3111rin, St6 -33412, st4-431213. Доопыление пылью паслена не влияло на частоту завязываемости плодов у изученных генотипов. Обработка рыльца пестика фитогормонами повлияла на завязываемость семян от опыления, причем обработка зеатином или АБК за 2 часа до опыления существенно увеличивало число опыленных семязачатков по сравнению с обработкой в 15 минут.

Инокуляция семязачатков на питательную среду была более успешна на агаризованной среде по сравнению с жидкой, того же гормонального состава. Кроме того, существенное влияние на развитие проростков и каллуса оказывало время инокуляции на питательную среду семязачатки, извлеченные из плодов до 22 ДПО – некротировали или развивали небольшое количество каллуса после чего погибали. Из семязачатков, пересаженных после 22 ДПО развивались проростки, либо органогенный каллус. На среде без добавления фитогормонов развития семязачатков не происходило. Эмбриониды формировали проростки и калус как на средах с добавлением зеатина, так и при добавлении БАП.

Установлено влияние фитогормонов зеатина и АБК на завязываемость плодов и формирование семязачатков при обработки рыльцев пестика до опыления пасленом. Оптимальным сроком введения опыленных семязачатков в культуру *in vitro* был 22-35 день после опыления. Без добавления фитогормонов в питательную среду развития зародышей не происходило, при добавлении в питательную среду зеатина и БАП происходило развитие каллуса или эмбрионидов.

Работа выполнена за счет средств тематического плана-задания на выполнение научно-исследовательских работ по заказу Минсельхоза России за счет средств федерального бюджета в 2024 году.

#### Список литературы:

1. Alconero R, Robinson RW, Dicklow B, Shail J (1988) Verticillium wilt resistance in eggplant, related Solanum species, and interspecific hybrids. HortScience 23:388–390

2. Collonnier U, Mulya K, Fock I, Mariska I, Servaes A, Vedel F, Siljak-Yakovlev S, Souvannavong V, Sihachakr D (2003) Somatic hybrids between *Solanum melongena* and *S. sisymbriifolium* as a useful source of resistance against bacterial and fungal wilts. *Plant Sci* 164:849–861. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(03\)00075-X](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(03)00075-X)

3. Bal U, Abak K (2003) Attempts of haploidy induction in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) via gynogenesis I: pollination with *Solanum sisymbriifolium* Lam. pollen. *Pak J Biol Sci* 6(8):745–749. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2003.745.749>

4. Piosik, Ł., Ruta-Piosik, M., Zenkteler, M., & Zenkteler, E. (2019). Development of interspecific hybrids between *Solanum lycopersicum* L. and *S. sisymbriifolium* Lam. via embryo calli. *Euphytica*, 215, 1-20.

## ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО ЭКСПРЕССИРУЕМЫЕ ПРИ ЗАРАЖЕНИИ ПЕПТИДЫ РЕГУЛИРУЮТ БАЛАНС РОСТА И ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ БИОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

Майборода А.Д., Галыш А.А., Мамаева А.С., Ляпина И.С.,  
Ганаева Д.Р., Фесенко И.А.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ГНЦ ИБХ РАН), 1117997, Москва, ГСП-7, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10;  
E-mail: alesandamay@yandex.ru*

Сигнальные пептиды растений вовлечены в широкий спектр регуляторных процессов, в том числе многие из них участвуют в ответе на биотический стресс [1]. Мох *Physcomitrium patens* является удобным модельным объектом системной биологии и позволяет проследить эволюционные закономерности адаптации растений к биотическому и абиотическому стрессу. Ранее в ходе анализа транскриптомов мха *Physcomitrium patens* при заражении патогенным грибом *Botrytis cinerea* сотрудниками нашей лаборатории было выявлено изменение экспрессии генов PSYL1, EPFL и MEG. Изменение экспрессии перечисленных генов в ответ на заражение патогеном позволяет предположить, что они могут регулировать иммунный ответ.

Чтобы выяснить роль пептидов в переключении между ростом растения и ответом на стресс, мы проверили возможное влияние обработки протонемы мха *Physcomitrium patens* синтетическими пептидами EPFL, MEG, PSY1, PSYL1 и PSYL2 на рост клеток и продукцию внутриклеточных активных форм кислорода (АФК), повышение концентрации которых является маркером стресса и характерно в том числе при взаимодействии с патогеном [2].

Для детекции внутриклеточных АФК протонему *P. patens* инкубировали в течении 15 минут с 5 мкМ пептида и 10 мкМ флуоресцентным красителем 2',7'-дихлородигидрофлуоресцеин диацетатом (DCFH-DA). При обработке синтетическими пептидами EPFL и PSYL2 наблюдалось статистически значимое увеличение концентрации внутриклеточных АФК, обработка PSY1 и MEG, напротив, приводила к уменьшению уровня АФК.

Для выявления действия этих пептидов на рост клеток протонему мха в течении 7 дней выращивали на полужидкой среде с добавлением синтетических пептидов в концентрации 1, 10, 100 и 1000 нМ. Клеточные стенки окрашивали йодидом пропидия в концентрации 1 мкг/мл в течение 5 мин. По результатам эксперимента было обнаружено статистически значимое удлинение клеток при обработке пептидами PSYL1 (100 нМ и 1 мкМ), PSYL2 (1 мкМ) и уменьшение длины клеток при обработке MEG (1 нМ).



Выявленный нами эффект пептидов PSYL1/2 *P. patens* согласуется с действием PSY-пептидов *Arabidopsis thaliana*, которые способствуют удлинению клеток корня [3].

Таким образом, пептиды EPFL, MEG, PSY1, PSYL1 и PSYL2 — важный компонент системы контроля баланса между ростовыми процессами и защитными реакциями в условиях биотического стресса.

Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (Проект № 23-74-10048).

#### **Список литературы:**

1. Chen, Y. L., Fan, K. T., Hung, S. C., & Chen, Y. R. (2020). The role of peptides cleaved from protein precursors in eliciting plant stress reactions. *New Phytologist*, 225(6), 2267-2282.

2. Khan, M., Ali, S., Al Azzawi, T. N. I., Saqib, S., Ullah, F., Ayaz, A., & Zaman, W. (2023). The key roles of ROS and RNS as a signaling molecule in plant–microbe interactions. *Antioxidants*, 12(2), 268.

3. Amano, Y., Tsubouchi, H., Shinohara, H., Ogawa, M., & Matsubayashi, Y. (2007). Tyrosine-sulfated glycopeptide involved in cellular proliferation and expansion in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(46), 18333-18338.

## **СОДЕРЖАНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ МЕТАБОЛИТОВ В КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУРАХ *OSIMUM BASILICUM* L.**

**Гвоздикова, А.М.<sup>1</sup>, Поливанова, О.Б.<sup>2</sup>, Федорова, Д.Г.<sup>1</sup>**

**1 – Оренбургский государственный университет, 460018, г. Оренбург, пр. Победы, 13, post@mail.osu.ru**

**2 – Российский государственный аграрный университет-МСХА им. К.А. Тимирязева, 127434, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49  
Email: info@rgau-msha.ru**

Образцом для эксперимента был выбран каллус, полученный из растений сорта Русский гигант фиолетовый на среде MS + 2 мг/л 2,4-Д (первичный эксплант – стебли). Данный вариант был выбран, потому что являлся самым жизнеспособным и типичным каллусом для данного сорта. На первом этапе исследования определяли сухую и сырую биомассу каллуса в конце пассажа, индекс роста (по сырой биомассе) и жизнеспособность клеток каллуса. Также проводилось микроскопирование клеток каллуса. Контролем служила среда без добавления НЧ. Все измерения проводили в 5-кратной повторности.

Исходя из данных можно сказать, что концентрация 25 мкг/л НЧ существенно увеличивает накопление сырой биомассы каллусной культуры по сравнению со всеми опытными вариантами и контролем. Существенных различий между контролем и средой с добавлением 12,5 мкг/л НЧ не наблюдается. Существенных различий в накопление сухой биомассы между всеми вариантами и контролем нет. Наибольший индекс роста наблюдается в третьем варианте среды, наименьший в четвертом. Самая высокая жизнеспособность наблюдается в контрольном варианте. При добавлении НЧ, во всех вариантах, жизнеспособность клеток каллуса снижается.

Каллус на среде MS + 2 мг/л 2,4-Д + 25 мкг/л НЧ является более однородным по сравнению с другими вариантами сред, более антоциан-окрашенным, самым крупным и по своему виду очень схож с контролем. Каллус, полученный на среде с добавлением 50 мкг/л НЧ, получился рыхлым, а на среде с добавлением 12,5 мкг/л НЧ наоборот – плотным.

Также проводилось микроскопирование клеток каллуса. У контрольного варианта клетки при приготовлении давленного препарата плохо распадаются (сильно выраженное межклеточное взаимодействие), имеют округлую форму, гетерогенны по размеру и форме. Клетки фиолетовых участков каллуса имеют насыщенный фиолетовый цвет, в окрашенных клетках обнаружались черные точки (включения). В варианте с добавлением 12,5 мкг/л НЧ различий с контролем не обнаружено, клетки также округлые и гетерогенные. При добавлении 25 мкг/л клетки увеличились в размерах и приобрели более округлую форму, по сравнению с предыдущими вариантами. На фиолетовых участках увеличилось число черных точек (включений).

На среде с добавлением 50 мкг/л НЧ было сложно рассмотреть одиночные клетки, все они были собраны в конгломераты. Количество черных включений существенно увеличилось, они стали появляться не только в окрашенных клетках, но и в обычных.

На втором этапе проводилось определение содержания пигментов (хлорофилла *a* и *b*), определение суммарного содержания ФС, флавоноидов и мономерных антоциановых пигментов. Существенных различий в содержании хлорофилла *a* и *b* в каллусе *O. basilicum* L. между контролем и различными вариантами сред с разными концентрациями НЧ не наблюдается. Во всех вариантах соотношение хлорофиллов ниже нормы, что говорит о недостаточном освещении каллусной культуры.

Различий в содержании фенольных соединений для каллусов, полученных из растений базилика душистого сорта Русский гигант фиолетовый, на среде MS + 2 мг/л 2,4-Д с различным содержанием наночастиц, не выявлено. Существенных различий между вариантами с различными концентрациями НЧ по сравнению с контролем не наблюдается. Суммарное содержание флавоноидов на средах с добавлением НЧ примерно находится на одном уровне. Существенных различий в содержании мономерных антоциановых пигментов между контролем и средами с различными концентрациями наночастиц не наблюдается. Также при использовании сред с концентрациями наночастиц 12,5 мкг/л и 25 мкг/л содержание антоцианов значительно выше, чем при использовании среды с концентрацией наночастиц 50 мкг/л.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-76-10060, <https://rscf.ru/project/23-76-10060/>

## **ПРИМЕНЕНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА ТЫКВЕ ТВЕРДОКОРОЙ В РАССАДНЫЙ ПЕРИОД**

**Гончаров А.В.<sup>1</sup>, Гаспарян И.Н.<sup>2</sup>**

***1 – ФГБОУ ВО Министерства сельского хозяйства Российской Федерации  
«Российский государственный университет народного хозяйства  
имени В.И. Вернадского» (ФГБОУ ВО МСХ РФ РГУНХ имени В.И. Вернадского),  
Балашиха 143907, E-mail: tikva2008@mail.ru***

***2 – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии  
имени Д.Н. Прянишникова» (ФГБНУ «ВНИИ агрохимии»), Москва 127434  
E-mail: irina150170@yandex.ru***

В настоящее время для реализации биологического потенциала сельскохозяйственных растений все большее значение приобретают регуляторы роста. Они используются для повышения всхожести и энергии прорастания семян, улучшения работы и стимуляции корневой системы, стимулирования развития вегетативной массы и фотосинтетической активности, стимулированию естественного иммунитета растений, повышению устойчивости растений к стрессовым факторам различной природы и как

следствие повышению урожайности и качеству продукции. Использование регуляторов роста осуществляется в малых количествах, имеют часто природное происхождение, в связи с чем считаются экологически чистыми, что очень важно в последние годы, когда большую популярность приобретает здоровое питание. Экологизация сельского хозяйства в настоящее время приобретает все более широкое распространение как основа органического земледелия. Проведенные отечественными и зарубежными учеными исследования, свидетельствуют о высокой эффективности действия регуляторов на развитие, урожайность и качество продукции [1-11].

Изучали влияние регуляторов роста на морфофизиологические показатели рассады на сорте тыквы твердокорой Спагетти (2014-2018 гг.). При исследовании сорта Спагетти показатели роста: высота растений количество листьев, площадь листьев при применении регуляторов роста были выше, чем контрольные показатели. При использовании препаратов в обработке сухих семян максимальное увеличение длины гипокотилия было при применении препарата эпин экстра в дозе 0,5 мл/л (на 18 %). также было повышение высоты растений (на 15,8 %). Но на количество листьев препарат подействовал менее эффективно. Максимальное количество листьев оказалось при применении препарата цитовит (0,5 мл/л), что сказалось на площади листьев и как следствие на сухой массе растений, прибавка от контроля составила 17-18 % в среднем по годам исследований.

Исследования проводились и на пророщенных семенах на сорте тыквы твердокорой Спагетти. Обработка пророщенных семян регуляторами роста также показало повышение практически всех показателей роста по всем исследуемым препаратам. Лучшие результаты были при применении силипланта (1,5 мл/л), препарат оказал действие на длину гипокотилия (+26,6%), высоту растений (+8,0%), количество листьев (+11,1%). При применении силипланта произошло увеличение площади листьев на 11,7 %. Фотосинтезирующая функция растений при применении регуляторов роста активно повышалась, в том числе сухая биомасса увеличилась на 47 %. Препарат Феровит (1,5 мл/л) показал повышение длины гипокотилия, высоты растений, но на изменение листовой поверхности не оказал влияния, что сказалось на снижении сухой массы.

#### **Список литературы:**

1. Гаспарян И.Н., Левшин А.Г., Ивашова О.Н., Гончаров А.В., Денискина Н.Ф., Гаспарян Ш.В. Лучшие практики применения технологий по адаптации отрасли растениеводства к изменениям климата: монография. М.: РГАУ-МСХА. 2024. 196 с.
2. Гончаров А.В. Агробиологические и технологические основы повышения продуктивности и качества тыквы при механизированном возделывании в условиях Центрального региона Нечерноземной зоны Российской Федерации: диссертация. 2023. 312 с.
3. Жукова П.С. Регуляторы роста и гербициды на овощных культурах и картофеле. 1980. 198 с.
4. Закабунина Е.Н., Хаустова Н.А., Гончаров А.В. Регуляторы роста как элемент технологии возделывания свеклы столовой. 2023. С. 132-138.
5. Кефели В.И. Природные и синтетические регуляторы онтогенеза растений. 1990. 157 с.
6. Клопов М.И., Гончаров А.В., Максимов В.И. Гормоны, регуляторы роста и их использование в селекции и технологии выращивания сельскохозяйственных растений и животных: учебное пособие. – СПб.: Лань. 2016. – 374 с.
7. Коновалов А.А., Тютюма Н.В. Формирование продуктивности крупноплодной тыквы в подзоне светло-каштановых почв в зависимости от приемов влагосбережения и регуляторов роста. 2020. 4 (46): 3-8.
8. Мамонов Е.В., Старых Г.А., Гончаров А.В. Применение регуляторов роста растений на культурах семейства Тыквенные (Cucurbitaceae). 2012. 2: 74-78.

9. Хлебников В.Ф., Смурова Н.В. Эколого-генетический анализ морфометрических признаков семени *Cucurbita pepo* var. *giramontia* Duch. 2017. 2: 83-87.

10. Goncharov A.V., Golubkina N.A., Pivovarov V.F., Gasparian I.N., Caruso G. Comparative evaluation of biochemical parameters and mineral composition of *Cucurbita ficifolia*, *C. maxima* and *C. moschata* fruit, grown in the Northern hemisphere // *Vegetable Crops of Russia*. 2022. 4: 46-54.

11. Goncharov A.V., Gasparyan Sh.V., Levshin A.G., Gasparyan A.Sh., Gasparyan I.N. Fatty acid composition of seeds of pumpkin (*Cucurbita*) varieties cultivated mechanized in the conditions of the Nonchernozem zone of the Russian Federation. 2022. С. 012083.

## **ДЕЙСТВИЕ ГИПОКСИИ И ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА НА УРОВЕНЬ АФК У РАЗНЫХ ГЕНОТИПОВ ПШЕНИЦЫ**

**Даулетова Р.Б., Федорева Л.И., Лазарева Е.М., Кононенко Н.В.**

**ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ) ул. Тимирязевская 42, Москва, Россия, 127550,  
E-mail: iab@iab.ac.ru**

Различные стрессовые факторы приводят к повышению уровня активных форм кислорода (АФК) и усилению повреждения различных тканей растений. Избыточная продукция АФК при окислительном стрессе является частью многих стрессовых ситуаций, включая гипоксию и действие перекиси водорода.

Целью данной работы было изучение влияния стрессовых факторов, таких как гипоксия и действие перекиси водорода, на образование и локализацию АФК у двух генотипов пшеницы *Triticum aestivum* и *Triticum durum* и защитного действия кверцетина от АФК.

Методами световой и флуоресцентной микроскопии, а также биохимическими и иммуноцитохимическими методами установлено, что у растений пшеницы под действием гипоксии (24 ч) при окрашивании корней сортов Оренбургская 22 и Оренбургская 10 маркером АФК Carboxy-H<sub>2</sub>DFF наблюдается разное количество продукции АФК, определяемое по интенсивности флуоресценции. Причем, у сорта Оренбургская 10 продукция АФК увеличивалась в большей степени по сравнению с сортом Оренбургская 22. Зоны корня отмечены от наиболее интенсивной флуоресценции до ее отсутствия. Полученные данные показывают, что при гипоксии наиболее интенсивное окрашивание АФК наблюдается в зонах чехлика и деления. При этом по сравнению с контролем повышение уровня АФК в наибольшей степени наблюдается в клетках эпидермиса и кортекса, и в меньшей степени - в клетках центрального цилиндра. Для выживания организма в условиях гипоксического стресса индуцируется ПКС. Повышение уровня АФК сопровождается разрывами ДНК в ядрах клеток корня пшеницы, выходом цитохрома с из митохондрий в цитоплазму и обнаружением фосфатидилсерина на наружной цитоплазматической мембране, что свидетельствует о запуске разных путей ПКС при различных стрессовых условиях. В условиях гипоксии длина корней проростков у сорта Оренбургская 22 практически не изменяется, у сорта Оренбургская 10 гипоксия приводит к увеличению длины на 20%. Предобработка кверцетином уменьшает длину корней у сорта Оренбургская 22 на 6% по сравнению с контролем, а у сорта Оренбургская 10 – увеличивает на 15%. Обработка проростков пшеницы кверцетином после воздействия стрессовых факторов частично восстанавливает рост проростков только сорта Оренбургская 22. Предобработка кверцетином эффективна и способствует защите от окислительного стресса.

Окислительный стресс, вызванный перекисью водорода, усиливал образование АФК в митохондриях, что приводило к открытию поры перехода проницаемости [1], высвобождению цитохрома с, снижению продукции АТФ, а затем и к гибели клеток. Перекись водорода ускоряла гибель клеток по типу ПКС с участием митохондрий в культурах клеток сои, арабидопсиса [2,3] и табака [4]. В наших исследованиях показано, что под действием  $H_2O_2$  (1%, 1 ч) при окрашивании корней проростков пшеницы сортов Оренбургская 22 и Оренбургская 10 маркером АФК Carboxy-H2DFF происходит различное накопление продукции АФК, определяемое по интенсивности флуоресценции, в зависимости от сорта и от зон корня. Полученные данные показывают, что под действием перекиси водорода максимальное количество продукции АФК накапливается в зонах чехлика и меристемы. В основном интенсивная флуоресценция наблюдалась в клетках эпидермиса и кортекса, а более слабая – в клетках центрального цилиндра. Воздействие 1%  $H_2O_2$  в большей степени угнетает высоту побегов по сравнению с длиной корней у сорта Оренбургская 22 на 15%. Предобработка кверцетином примерно одинаково снижает влияние  $H_2O_2$  на высоту проростков, как у сорта Оренбургская 22, так и у сорта Оренбургская 10 (5%).

Растения обладают развитой мощной антиоксидантной системой, которая позволяет им нейтрализовать избыток АФК. Воздействие абиотических стрессов на пшеницу запускает систему антиоксидантной защиты. На основании полученных результатов выявлена разная активация различных компонентов АФК у двух генотипов пшеницы. В основе защитной реакции сорта Оренбургская 10 лежит высокое содержание GSH и активация глутатион зависимых ферментов, а сорт Оренбургская 22 отличается высоким уровнем экспрессии генов *MnSOD* и *Cu/ZnSOD*. Антиоксидант кверцетин снижает образование АФК, повышает уровень *MnSOD* и *Cu/ZnSOD*. Обработка проростков пшеницы кверцетином оказывает защитное действие и защищает от токсического воздействия абиотических факторов

#### **Список литературы:**

1. Rawyler, A.; Arpagaus, S.; Braendler, R.. Impact of Oxygen Stress and Energy Availability on Membrane Stability of Plant Cells. *Ann. Bot.* 2002, 90, 499-507
2. Tiwari, B.S.; Belenghi, B.; Levine, A. Oxidative stress increased respiration and generation of reactive oxygen species, resulting in ATP depletion, opening of mitochondrial permeability transition, and programmed cell death *Plant Physiology* 2002, 128, 1271–1281.
3. Amor, Y.; Chevion, M.; Levine, A. Anoxia pretreatment protects soybean cells against  $H_2O_2$ -induced cell death: possible involvement of peroxidases and of alternative oxidase. *FEBS Letters* 2000, 477, 175-180.
4. Houot, V.; Etienne, P.; Petitot, A.S.; Barbier, S.; Blein, J.P.; Suty, L. Hydrogen peroxide induces programmed cell death features in cultured tobacco BY-2 cells, in a dose-dependent manner. *J Exp Bot.* 2001, 52, 1721-1730.

## **ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА ВЫСОТУ РАСТЕНИЙ**

### ***FICUS BENJAMINA L.***

**Турищева Д.А., Зубик И.Н.**

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» (РГАУ-МСХА), 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49, E-mail: innazubik@rgau-msha.ru**

На сегодняшний день не ослабевает интерес и необходимость использования различных декоративных растений для озеленения внутренних помещений. Фигус Бенджамина (*Ficus benjamina* L.) – достаточно популярное комнатное растение [1]. Однако важной составляющей успешной реализации растений в торговых сетях является их высокая декоративность, которой можно добиться, используя регуляторы и стимуляторы роста в процессе ухода за растениями [2]. Регуляторы роста могут использоваться для улучшения формы и размера растений, что делает их более привлекательными для потребителей [3].

Наши исследования проводились в период 2022–2023 гг. на территории Ботанического сада имени С.И. Ростовцева РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева. Целью работы являлось изучение влияния регуляторов роста на изменение высоты растений *F. benjamina*. В качестве объектов исследований было изучено 120 молодых растений *F. benjamina*. В опыте было 4 варианта: с применением регуляторов роста и без него (контроль); в каждом варианте – по 3 повторности, в каждой повторности – 10 черенков. Растения были приведены к общему виду и промаркированы. В период с 11 июля по 20 ноября 2023 г. были проведены три внекорневые обработки препаратами РостоВИТ и Циркон. Измерения проводили каждые 10 дней на протяжении 3 месяцев.

В результате наблюдений за ростом растений *F. benjamina* отмечено, что обработки препаратами РостоВИТ и Циркон были достаточно эффективными: прирост растений в обоих вариантах составил 12,2–12,4 см. При этом превышение над контрольным вариантом составило 4,0–4,2 см. Выявлено, что наибольшее значение показателя (19,45 см) имели растения, обработанные препаратом РостоВИТ в концентрации 2,0 мл/л, тогда как наименьшее значение (15,01 см) – в контрольном варианте (без обработок).

Полученные данные расширяют знания о динамике роста *F. benjamina* при использовании регуляторов роста и могут быть использованы для массового размножения, сохранения и увеличения декоративности. Эффективность применения препарата Циркон соотносится с положительными результатами с его использования в других исследованиях по выращиванию декоративных и плодовых древесных культур [2-?].

#### **Список литературы:**

1. Герасимов С.О., Журавлев И.М. Комнатное цветоводство. М.: Нива России, 2018. 192 с.
2. Зубик И.Н., Сорокопудов В.Н., Симахин М.В. [и др.]. Оценка влияния обработки зеленых черенков видов рода Лох (*Elaeagnus* L.) на ростовые процессы после укоренения // Вестник Курской ГСХА. 2020. 8: 19–24.
3. Козлова Е.А., Шарафутдинов Х.В., Орлова Е.Е. [и др.]. Изучение влияния субстратов, регуляторов роста и удобрений на рост и развитие укорененных черенков нематантуса (*Nematanthus* Schrad.) // Естественные и технические науки. 2022. 9: 46–50.
4. Чудецкий А.И., Родин С.А., Зарубина Л.В., Кузнецова И.Б. Адаптация сортового посадочного материала брусники обыкновенной к нестерильным условиям *ex vitro* для выращивания на нелесных землях // Лесохозяйственная информация. 2021. 4: 106–113. DOI: 10.24419/LNI.2304-3083.2021.4.08.
5. Чудецкий А.И., Родин С.А., Кузнецова И.Б., Макаров С.С. Адаптация красники (*Vaccinium praestans* Lamb.) *in vitro* к нестерильным условиям *ex vitro* для выращивания на нелесных землях в южно-таежном районе европейской части России // Вестник Бурятской ГСХА имени В.Р. Филиппова. 2022. 3: 112–120. DOI: 10.34655/bgsha.2022.68.3.016.
6. Чудецкий А.И., Макаров С.С., Родин С.А. Методические рекомендации по выращиванию посадочного материала брусники и красники *in vitro* и *ex vitro*. Пушкино: ВНИИЛМ, 2022. 20 с.
7. Чудецкий А.И., Родин С.А., Зарубина Л.В. [и др.]. Микрклональное размножение и особенности адаптации к условиям *ex vitro* лесных ягодных растений рода

Vaccinium // Техника и технология пищевых производств. 2022. 52 (3): 570–581. DOI: 10.21603/2074-9414-2022-3-2386.

8. Макаров С.С., Антонов А.М., Лютикова А.И. Влияние стимуляторов корнеобразования на укоренение одревесневших черенков туи западной (*Thuja occidentalis* L.) в гидропонной установке // Естественные и технические науки. 2023. 5: 178–181.

9. Чудецкий А.И., Макаров С.С., Родин С.А. [и др]. Укоренение *in vitro* и адаптация к нестерильным условиям российских сортов брусники обыкновенной // Лесохозяйственная информация. 2023. 2: 102–114. DOI: 10.24419/LHI.2304-3083.2023.2.08.

10. Антонов А.М., Макаров С.С., Лютикова А.И. [и др]. Влияние стимуляторов корнеобразования на укоренение зеленых черенков туи западной (*Thuja occidentalis* L.) в условиях Архангельской области // Лесохозяйственная информация. 2024. 1: 91–98. DOI: 10.24419/LHI.2304-3083.2024.1.07.

## БАКТЕРИЗАЦИЯ СЕМЯН ЗЕРНОФУРАЖНЫХ КУЛЬТУР И ФИТОСАНИТАРНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧВЫ

Корчагина И.А., Шулико Н.Н.

**ФГБНУ «Омский аграрный научный центр» (ФГБНУ Омский АНЦ),  
Омск, 644012; E-mail: korchagina@anc55.ru**

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 23-76-10064, <http://rscf.ru/project/23-76-10064>

Защита сельскохозяйственных растений от вредных организмов строится на интеграции селекционно-генетических, агротехнических, химических и биологических мероприятий [1].

Фитосанитарная ситуация в современной земледелии характеризуется высоким уровнем антропогенного воздействия на агроэкосистемы, что сопряжено с ухудшением почвенного плодородия, высокой численностью популяций сорных растений, фитофагов, возбудителей болезней [2,3].

На протяжении многих лет работники сельскохозяйственной отрасли отмечают поражение растений гнилью корней. В условиях Западной Сибири распространена корневая гниль и одним из основных её возбудителей является гриб *Bipolaris sorokiniana* Shoem. (синонимы: *Drechlera sorokiniana* Subram. et Jain, *Helminthosporium sativum* Pam.) *Cochliobolus sativus* (Ito et Kuribay) Drechs)). Связь между потенциалом возбудителя и развитием болезни наблюдается при любом механизме передачи патогена. Однако исходное его количество имеет наибольшее значение в случае, когда передача осуществляется через почву или семена [4,5].

Анализ почвы проведён методом флотации на заселённость конидиями возбудителя обыкновенной корневой гнили зерновых культур (*Bipolaris sorokiniana* Shoem [6]. Отбор почвенных образцов осуществлён перед началом весенне-полевых работ (после устойчивого достижения среднесуточной температуры почвы выше 10<sup>0</sup>С), а также в течении вегетации растений 2023 года с глубины 0-20 см в южной лесостепи Западной Сибири на лугово-черноземной почве.

Семена ячменя сорта «Омский 101» и овса сорта «Сибирский геркулес» перед посевом обработали биологическими препаратами на основе штаммов азотфиксирующих бактерий: Мизорин (*Arthrobacter mysorens*) и Флавобактерин (*Flavobacterium* sp. L-30). Указанные препараты получены во Всероссийском научно-исследовательском институте сельскохозяйственной микробиологии. Инокуляция семян проведена в день посева, рекомендованными дозами. Отбор ризосферы осуществляли в течение вегетации

культуры в фазы развития растений: кущение, колошение, налив зерна на опытных полях Омского АНЦ.

При физической спелости почвы в весенний период заселённость почв конидиями *Bipolaris sorokiniana* составила 25 конидий/г почвы (ПВ 60 конидий/г почвы). Для лугово-черноземной почвы такая численность не превышает численность микроорганизма.

Исследования в течение вегетационного периода показали, что общая численность конидий *Bipolaris sorokiniana* в ризосфере ячменя составила 23,3-33,3 шт/г и овса - 28,3-31,7 шт/г при ПВ 40 шт/г. Заселенность почвы живыми конидиями была 3,3-4,0 шт./г. В условиях года наименьшая концентрация возбудителя отмечена в ризосфере ячменя при инокуляции семян Флавобактерином.

Корневая гниль является вредоносным заболеванием и с каждым годом прогрессирует во всех регионах РФ. Болезнь может проявляться на ранних стадиях развития растений. Если к концу вегетации она не причиняет урожаю существенный вред, то в последующий сезон, при её инфекционном накоплении не только в семенах, почве и на растительных остатках, но на сорных злаках происходит ухудшение фитосанитарной ситуации [7,8].

Наши исследования направлены на изучение устойчивости почв к вредным организмам в условиях Омской области. Здоровье почвы зависит от множества факторов: температуры, влагообеспеченности, минерального питания, устойчивости сорта, защиты семян и посевов. Плотность жизнеспособных конидий возбудителя была ниже порога вредоносности как перед посевом, так и в течении летнего сезона, что позволяет предположить, что фитосанитарная ситуация в отношении данного патогена спокойная.

#### **Список литературы:**

1. Власенко Н.Г. К вопросу о формировании фитосанитарной ситуации в системе No-till / Н.Г. Власенко, Н.А. Коротких, И.Г. Бокина; Рос. акад. с.-х. наук. Сиб. регион. отделение, Сиб. науч.-исслед. ин-т земледелия и химизации сел. хоз-ва; под общ. ред. А.Н. Власенко. Новосибирск, 2013. 124 с.

2. Разина А.А., Султанов Ф.С., Дятлова О.Г. Новые сорта яровой пшеницы и корневая гниль // Вестник КрасГАУ. 2019. № 5(146). С. 22-27.

3. Корчагина И.А., Юшкевич Л.В. Сорта пшеницы в интенсивном земледелии Омского Прииртышья. Омск : Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Омский аграрный научный центр", 2023. 172 с. ISBN 978-5-98559-039-5.

4. Теплякова О.И., Тепляков Б.И. Факторы, определяющие накопление *Bipolaris sorokiniana* Shoem. в чернозёме выщелоченном под яровой мягкой пшеницей в условиях Сибири // Вестник НГАУ. 2012. 3(24). С. 30-36.

5. Биологические и агрохимические свойства лугово-Черноземной почвы Омского Прииртышья в связи с продуктивностью кормовых культур при применении минеральных удобрений / Н.Н. Шулико, А.Ю. Тимохин, О.Ф. Хамова [и др.] // Сельскохозяйственная биология. 2024. Т. 59, № 1. С. 156-173. DOI 10.15389/agrobiology.2024.1.156rus.

6. Чулкина В.А., Торопова Е.Ю., Стецов Г.Я., Кириченко А.А., Мармулев Е.Ю., Гришин В.М., Казакова О.А., Селюк М.П. Фитосанитарная диагностика агроэкосистем / под ред. профессора Е.Ю. Тороповой. Барнаул, 2017. 210 с.

7. Марьина-Чермных О.Г. Динамика поражения болезнью корневая гниль зерновых культур // Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства. 2020. № 22. С. 31-35.

8. Корчагина И.А., Юшкевич Л.В. Особенности развития корневой гнили в агрофитоценозе пшеницы яровой при различных агротехнологиях в лесостепи Западной Сибири // Зерновое хозяйство России. 2022. Т. 14, № 6. С. 90-96. DOI 10.31367/2079-8725-2022-83-6-90-96.



# КРИТИЧЕСКИЕ ЭТАПЫ ПОЛУЧЕНИЯ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ МОРКОВИ СТОЛОВОЙ В КУЛЬТУРЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ МИКРОСПОР *IN VITRO*

Кулаков Ю.В.<sup>1,2</sup>, Киракосян Р.Н.<sup>2</sup>, Домблидес Е.А.<sup>1</sup>

1 – ФГБНУ «Федеральный Научный Центр Овощеводства» (ФГБНУ ФНЦО),  
Московская обл., Одинцовский городской округ, поселок ВНИИССОК 143080;  
E-mail: ykulakov12@yandex.ru

2 – ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет — МСХА имени  
К. А. Тимирязева» (ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА имени К. А. Тимирязева), Москва 127434

Известно, что ускорение селекционного процесса за счет создания полностью гомозиготных растений в течении одного поколения является основным преимуществом технологий получения удвоенных гаплоидов (ДН-технологий). Такие гомозиготные растения облегчают работу селекционера, являются удобной моделью для проведения генетических исследований и для изучения эмбриогенеза [1].

Технология получения удвоенных гаплоидов в культуре изолированных микроспор *in vitro* состоит из двух основных этапов, представляющих из себя индукцию эмбриогенеза и регенерацию ДН-растений из полученных эмбриоидов. Целью данного исследования являлось выделение и изучение критических факторов на каждом этапе технологии с целью увеличения выхода удвоенных гаплоидов моркови столовой (*Daucus carota* L.) в культуре изолированных микроспор *in vitro*.

Выявлено, что на этап индукции эмбриогенеза моркови значительное влияние будут оказывать факторы: генотип, условия роста донорного растения, стадия развития микроспор, состав индукционной питательной среды и условия культивирования. Для индукции перехода микроспор с гаметофитного пути развития на спорофитный обычно используют такой стрессовый фактор, как воздействие на бутоны и/или изолированные микроспоры при помощи температурной обработки. Это может быть как холодовая обработка (4 °С) бутонов/микроспор, так и высокотемпературная обработка (32°С) уже полученной суспензии микроспор *in vitro*, либо совмещение обоих вариантов обработок [2]. В результате проведенных экспериментов на четырех генотипах моркови столовой было показано, что индукция эмбриогенеза в культуре изолированных микроспор моркови столовой могла быть существенно увеличена при использовании обработки бутонов при 4 °С в течение 1-2 суток, либо при использовании комбинации предобработки бутонов при 4 °С в течение двух суток и последующей обработки в течение двух суток при 32 °С введенных в культуру изолированных микроспор.

При изучении процесса эмбриогенеза в культуре изолированных микроспор *in vitro* у моркови столовой было отмечено образование вторичных эмбриоидов на поверхности первичного эмбриоида начиная с глобулярной стадии развития [3]. На генотипе Марлинка был изучен процесс вторичного эмбриогенеза при использовании 6 вариантов питательных сред на основе MSm[4] с различной комбинацией концентраций регуляторов роста и сахарозы: MSm б/г, 2% сахароза; MSm с 1 мг/л НУК, 1 мг/л 2,4-Д, 2% сахароза; MSm с 0,2 мг/л кинетина, 2 % сахароза; MSm б/г с 13 % сахарозой; MSm с 1 мг/л НУК, 1 мг/л 2,4-Д, 13% сахароза; MSm 0,2 мг/л кинетина, 13 % сахароза. Культивирование проводили в двух типах питательных сосудов: 1. в планшетах с лунками 6-well Culture Plate (Corning), содержащих 1 мл жидкой питательной среды; 2. в стеклянных стерильных банках объемом 80 мл, закрытых вентилируемой пластиковой крышкой и содержащих 5 мл жидкой питательной среды. Было показано, что количество образовавшихся вторичных эмбриоидов при использовании этих питательных сред очень сильно варьировало (от 25,8 ± 5,7 шт до 275,1 ± 12,6 штук) и зависело от генотипа и морфологии первичного эмбриоида. На питательных средах с 2 % сахарозой процесс вторичного

эмбриогенеза шел значительно более интенсивно и количество образующихся эмбриоидов достоверно различалось и было больше в среднем в 6 раз по сравнению с питательными средами с 13 % сахарозой.

Добавление 0,2 мг/л кинетина и 1 мг/л НУК совместно с 1 мг/л 2,4-Д достоверно увеличивает количество вторичных эмбриоидов моркови по сравнению с безгормональными питательными средами. Однако было отмечено, что эмбриоиды на питательных средах с добавлением ауксинов образовывались аномальными, неправильной формы и достаточно быстро становились витрифицированными. В последствии регенерировать растения из таких аномальных эмбриоидов было практически невозможно. В связи, с чем добавление в питательную среду данных регуляторов роста для получения вторичных эмбриоидов может быть неэффективным для получения растений-регенерантов. Напротив же, добавление 0,2 мг/л кинетина достоверно увеличивало выход вторичных эмбриоидов по сравнению с использованием варианта безгормональной питательной среды, и это были правильно сформированные эмбриоиды, которые в дальнейшем могут быть использованы для получения растений-регенерантов. Для четырех из шести тестируемых питательных сред не было обнаружено достоверной разницы в выходе эмбриоидов на 21 день культивирования при использовании различных по объему культуральных сосудов. Однако при последующем культивировании, в планшетах эмбриоиды в отсутствие пересадки быстрее бурели и начинали подсыхать из-за расходования питательной среды. Проведенные эксперименты по изучению вторичного эмбриогенеза моркови столовой показали, что для достоверного учета количества образовавшихся эмбриоидов в культуре изолированных микроспор моркови (эффективность технологии) рекомендуется начиная с 30 дня культивирования пересаживать эмбриоиды в отдельные пробирки или чашки Петри. Для размножения эмбриоидов за счет вторичного эмбриогенеза рекомендуется использовать жидкую питательную среду MSm с 0,2 мг/л кинетина и 2 % сахарозы.

#### **Список литературы:**

1. Seguí-Simarro J.M., Moreno J.B., Fernández M.G. et al. Species with haploid or doubled haploid protocols. In: Seguí-Simarro J.M., editor. Doubled haploid technology: Volume 1: General Topics, Alliaceae, Cereals. Methods in molecular biology. // Humana Press. 2021. Vol. 2287. P. 41-103. [http://doi/10.1007/978-1-0716-1315-3\\_3](http://doi/10.1007/978-1-0716-1315-3_3)
2. Romanova O.V., Vjurtts T.S., Mineykina A.I. et al. Embryogenesis induction of carrot (*Daucus carota* L.) in isolated microspore culture. Foods and Raw Materials. 2023;11(1):25–34. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-1-548>
3. Shmykova N., Domblides E., Vjurtts T. et al. Haploid Embryogenesis in Isolated Microspore Culture of Carrots (*Daucus carota* L.) // Life. 2021. Vol. 11. №1. P. 20. <https://doi.org/10.3390/life11010020>
4. Masuda K., Kikuta Y., Okazawa Y. A revision of the medium for somatic embryogenesis in carrot suspension culture. // J. Fac. Agr. Hokkaido Univ. 1981. Vol. 60. P. 183-193.

### **БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *CURCUMA LONGA* L. В КОНТРОЛИРУЕМЫХ УСЛОВИЯХ АЭРОПОННОГО ФИТОТРОНА**

*Лысенко Д.А., Мартиросян Л.Ю., Мартиросян В.В.*

*ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550,*

*E-mail: darokka99@gmail.com*

Куркума - многолетнее травянистое растение семейства Zingiberaceae, является ценным источником куркумина -натурального полифенола, имеющего сильные антиоксидантные свойства. Куркума давно и широко применяется в пищу и в медицинских целях, используется как пряность и натуральный краситель[1-2].

Учитывая хорошо изученные противовоспалительные, антиоксидантные и противораковые свойства этой культуры, поиск новых способов размножения и улучшение методов выращивания куркумы имеет важное значение для обеспечения потребителей доступным качественным сырьем, особенно для медицинского применения[3].

Цель нашей работы состояла в изучении особенностей выращивания и развития *Curcuma Longa* в аэропонных установках, а также в изучении влияния спектрального состава света на морфофизиологические и на некоторые биохимические параметры и активность фотосинтетического аппарата куркумы. Были установлены оптимальные условия для культивирования куркумы в аэропонном фитотроне, разработана стратегия получения оздоровленного посадочного материала, свободного от внутренних патогенов. В процессе работы были успешно введены в *in vitro* корневищные почки куркумы, на их основе получены прямые регенеранты и культура каллусной ткани[4].

Куркума преимущественно вегетативно размножаемое растение. Однако из-за многократного размножения таким способом посадочный материал накапливает много грибных и бактериальных патогенов. Разработка методов оздоровления посадочного материала, которая представляла цикл ультразвуковой химиотерапии разными смесями антибиотиков и фунгицидными средствами, проходящий в три этапа, стала первой задачей.

Далее оздоровленные корневищные зеленые почки куркумы были введены в культуру *in vitro* на среду МС, дополненную гормонами, что способствовало прямому органогенезу куркумы из части ложного стебля микрочеренков[4-5]. Полученные *in vitro* оздоровленные растения высаживали в аэропонном фитотроне при разных условиях освещения, варьировали соотношения красного, синего зеленого спектров и интенсивность спектрального облучения [6]. Также для растений куркумы были подобраны условия микроклимата, параметры минерального питания.

В ходе эксперимента были выявлены особенности формирования растений. Так, при углубленной фиксации основания растения в посадочном желобе происходило формирование большого количества этиолированных побегов, их отмирание, отставание растения в развитии. В другом варианте растения фиксировали над посадочным полем, что позволяло правильно формироваться молодым побегам, а в дальнейшем - и целому растению.

Из анализа концентрации антиоксидантов в различных частях растения *Curcuma longa* при различных вариантах облучения можно выделить несколько ключевых моментов. В варианте, где доля зеленого света была высокая по отношению с красным и с синим, облучение способствовало накоплению антиоксидантов в более вызревших подземных органах растения куркумы. Также наибольшее количество антиоксидантов было обнаружено в зрелых корневищах, находящихся на поверхности аэропонного желоба и получавших полный спектр освещения вместе с надземной частью.

При значительном преобладании красного спектра над синим и зеленым фиксируется наибольшая концентрация антиоксидантов в молодых корневищах. Свет высокой интенсивности оказывает благоприятное воздействие на активность фотосинтетического аппарата и окислительно-восстановительный гомеостаз растений, что приводит к повышению выхода куркумина из *Curcuma longa*.

Таким образом, растения *Curcuma Longa* L., после оздоровления от фитопатогенов, можно успешно культивировать в условиях аэропоники, получать насыщенные антиоксидантами корневища.

### Список литературы:

1. Кароматов И. Д. Антибактериальные, антивирусные и противопаразитарные свойства куркумы (обзор литературы) //Биология и интегративная медицина. – 2021. – №. 4 (51). – С. 112-131.
2. Вафоева Ш. Ш., Рахматова Д. Б., Кароматов И. Д. Перспективы применения куркумы в стоматологии //Биология и интегративная медицина. – 2022. – №. 2 (55). – С. 191-208.
3. Соколов, П. В. (2019). Вредители куркумы и меры борьбы с ними в условиях России. //Аграрная наука Евро-Северо-Востока, -3(76), -94–98.
4. Rani M. et al. Clonal Propagation of Turmeric (*Curcuma longa*) and Confirmation of Genetic Fidelity of the Micropropagated Shoots by RAPD Markers //Plant Tissue Culture and Biotechnology. – 2024. – Т. 34. – №. 1. – С. 55-69.
5. Bandara M. et al. Development of in-vitro protocol to enhance mass production of turmeric (*Curcuma longa* L.) //Tropical Agricultural Research and Extension. – 2023. – Т. 26. – №. 1.
6. Зайцев, А. А., Кузьмина, Е. А. (2019). Влияние интенсивности света на развитие корневого приземного аппарата куркумы. //Актуальные проблемы аграрной науки, производства и образования, – 1(33), – 148-150

## ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО ЭКСПРЕССИРУЕМЫЕ ПРИ ЗАРАЖЕНИИ ПЕПТИДЫ РЕГУЛИРУЮТ БАЛАНС РОСТА И ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ БИОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

Майборода А.Д., Галыш А.А., Мамаева А.С., Ляпина И.С., Ганаева Д.Р.,  
Фесенко И.А.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ГНЦ ИБХ РАН), 1117997, Москва, ГСП-7, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10;  
E-mail: alesandamay@yandex.ru*

Сигнальные пептиды растений вовлечены в широкий спектр регуляторных процессов, в том числе многие из них участвуют в ответе на биотический стресс [1]. Мох *Physcomitrium patens* является удобным модельным объектом системной биологии и позволяет проследить эволюционные закономерности адаптации растений к биотическому и абиотическому стрессу. Ранее в ходе анализа транскриптомов мха *Physcomitrium patens* при заражении патогенным грибом *Botrytis cinerea* сотрудниками нашей лаборатории было выявлено изменение экспрессии генов PSYL1, EPFL и MEG. Изменение экспрессии перечисленных генов в ответ на заражение патогеном позволяет предположить, что они могут регулировать иммунный ответ.

Чтобы выяснить роль пептидов в переключении между ростом растения и ответом на стресс, мы проверили возможное влияние обработки протонемы мха *Physcomitrium patens* синтетическими пептидами EPFL, MEG, PSY1, PSYL1 и PSYL2 на рост клеток и продукцию внутриклеточных активных форм кислорода (АФК), повышение концентрации которых является маркером стресса и характерно в том числе при взаимодействии с патогеном [2].

Для детекции внутриклеточных АФК протонему *P. patens* инкубировали в течении 15 минут с 5 мкМ пептида и 10 мкМ флуоресцентным красителем 2',7'-дихлородигидрофлуоресцеин диацетатом (DCFH-DA). При обработке синтетическими

пептидами EPFL и PSYL2 наблюдалось статистически значимое увеличение концентрации внутриклеточных АФК, обработка PSY1 и MEG, напротив, приводила к уменьшению уровня АФК.

Для выявления действия этих пептидов на рост клеток протонему мха в течение 7 дней выращивали на полужидкой среде с добавлением синтетических пептидов в концентрации 1, 10, 100 и 1000 нМ. Клеточные стенки окрашивали йодидом пропидия в концентрации 1 мкг/мл в течение 5 мин. По результатам эксперимента было обнаружено статистически значимое удлинение клеток при обработке пептидами PSYL1 (100 нМ и 1 мкМ), PSYL2 (1 мкМ) и уменьшение длины клеток при обработке MEG (1 нМ). Выявленный нами эффект пептидов PSYL1/2 *P. patens* согласуется с действием PSY-пептидов *Arabidopsis thaliana*, которые способствуют удлинению клеток корня [3].

Таким образом, пептиды EPFL, MEG, PSY1, PSYL1 и PSYL2 — важный компонент системы контроля баланса между ростовыми процессами и защитными реакциями в условиях биотического стресса.

Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (Проект № 23-74-10048).

#### Список литературы:

1. Chen, Y. L., Fan, K. T., Hung, S. C., & Chen, Y. R. (2020). The role of peptides cleaved from protein precursors in eliciting plant stress reactions. *New Phytologist*, 225(6), 2267-2282.

2. Khan, M., Ali, S., Al Azzawi, T. N. I., Saqib, S., Ullah, F., Ayaz, A., & Zaman, W. (2023). The key roles of ROS and RNS as a signaling molecule in plant–microbe interactions. *Antioxidants*, 12(2), 268.

3. Amano, Y., Tsubouchi, H., Shinohara, H., Ogawa, M., & Matsubayashi, Y. (2007). Tyrosine-sulfated glycopeptide involved in cellular proliferation and expansion in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(46), 18333-18338.

### ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРА РОСТА ЦИТОДЕФ НА ОБРАЗОВАНИЕ МИКРОПОБЕГОВ *RUBUS ARCTICUS* L. РОССИЙСКОЙ СЕЛЕКЦИИ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Макаров С.С., Чудецкий А.И.

*ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет –  
МСХА имени К.А. Тимирязева» (РГАУ-МСХА), 127550, Российская Федерация,  
г. Москва, ул. Тимирязевская, 49,  
E-mail: s.makarov@rgau-msha.ru*

В настоящее время в связи с повышением спроса на плодово-ягодную продукцию и необходимости импортозамещения возникает потребность в массовом выращивании высокоценных в пищевом, лекарственном и декоративном отношении дикорастущих ягодных видов. Одним из них является княженика арктическая, или поленика (*Rubus arcticus* L.), очень популярное в Скандинавских странах ягодное растение семейства Розовые (*Rosaceae*), имеющее довольно большой ареал произрастания (преимущественно – холодные и умеренные зоны: Скандинавия, Северная Америка, Россия). Княженика представляет собой многолетнее травянистое растение высотой 10–30 см, имеющее тонкий стебель с небольшим опушением и мощное одревесневающее корневище. Плоды – многокостянки, характеризуются сладким или кисло-сладким вкусом и приятным ароматом, содержат большое количество питательных элементов: углеводы, кислоты (лимонная, яблочная), эфирные масла, витамин С. Из ягод княженики готовят соки,

настойки, ликеры, варенья. Листья используются на приготовления суррогата чая [1-3]. Княженика предпочитает произрастать на кислых почвах с уровнем рН в пределах 3,5...6,0; может выдерживать небольшое подтопление. Княженику возможно размножить как семенами, так и вегетативно – делением куста, стеблевыми и корневыми черенками [2; 4; 5], но в природных популяциях встречается довольно редко [6; 7]. Для получения большого количества посадочного материала в целях промышленного выращивания необходимо прибегать к современным биотехнологическим способам размножения, а в современных экономических условиях – и к использованию отечественных селекционных достижений.

На сегодняшний день разработаны технологии клонального микроразмножения некоторых ягодных растений из рода *Rubus* L., при этом в состав питательных сред в качестве стимуляторов для образования побегов и корней входят регуляторы роста цитокининовой, ауксиновой и фенольной природы. Известны способы для клонального микроразмножения малины и ежевики [8-10]. Разработок по культивированию *R. arcticus* в культуре *in vitro* *R. arcticus* на сегодняшний день достаточно мало [11; 12], при этом можно отметить недостаточно высокий коэффициент размножения на этапе пролиферации побегов, что приводит к снижению выхода необходимого для плантационного выращивания количества посадочного материала и увеличению цепочки технологического цикла его производства. В связи с этим необходимо проведение дополнительных исследований в данном направлении и совершенствование технологий получения оздоровленного посадочного материала с более высоким коэффициентом размножения с учетом генетических особенностей разных сортов и форм.

Нами были изучены особенности выращивания в культуре *in vitro* растений *R. arcticus* российской селекции – сорта Галина и гибридной формы К26-14 – с использованием питательной среды MS в различных модификациях минеральной основы и добавлением регулятора роста Цитодеф.

В результате исследований было выявлено, что при клональном микроразмножении *R. arcticus* на этапе «собственно размножение» значительно большее число микропобегов у растений-регенерантов (у сорта Галина – в среднем 9,1 шт., у гибридной формы К26-14 – 7,1шт.) формировалось на питательной среде  $\frac{1}{2}$  MS с добавлением Цитодеф в концентрации 0,2 мг/л, тогда как на питательной среде MS данный показатель был меньше в среднем в 1,51–1,59 раза. Отмечено, что с повышением в питательной среде концентрации Цитодефа от 0,1 до 0,2 мг/л число микропобегов растений княженики увеличивалось в 1,21–1,33 раза.

Суммарная длина микропобегов *R. arcticus* на питательной среде  $\frac{1}{2}$  MS достигала у гибридной формы К26-14 в среднем 19,4 см, у сорта Галина – 20,5 см, что существенно больше (в 1,4–1,8 раза), чем на среде MS. При концентрации Цитодеф 0,1 мг/л в питательной среде суммарная длина микропобегов *in vitro* у регенерантов *R. arcticus* была в 1,4–1,5 раза больше, чем при концентрации 0,2 мг/л. Статистически значимых различий между сортами по данному показателю не выявлено.

Полученные данные могут быть использованы для дальнейших исследований и совершенствования технологии ускоренного получения оздоровленного и генетически однородного посадочного материала *R. arcticus* российской селекции.

Исследования проведены в рамках выполнения Тематического плана-задания на выполнение научно-исследовательских работ по заказу Минсельхоза России по теме «Разработка агротехнологий нового поколения для ягодных растений с использованием биотехнологических методов для закладки ягодных плантаций» за счет средств федерального бюджета в 2024 году.

### Список литературы

1. Фрейдлинг М.В. Поленика // Известия Карело-финского филиала АН СССР. 1949. 3: 49–57.

2. Чернова Е.П. Поленика и ее введение в культуру. М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1959. 35 с.
3. Ragnar M., Rytönen P., Hedh J. Åkerbär. Luleå, Sweden: Black Island Books, 2017. 169 p.
4. Тяк Г.В. Выращиваем княженику // Питомник и частный сад. 2016. 1: 18–22.
5. Тяк Г.В., Макаров С.С., Калашникова Е.А., Тяк А.В. Размножение и культивирование княженики арктической (*Rubus arcticus* L.) // Плодоводство и ягодоводство России. 2018. 52: 95–99.
6. Гудовских Ю.В., Егошина Т.Л., Кислицына А.В., Лугинина Е.А. Интродукция княженики арктической в условиях Волго-Вятского региона // Известия Самарского научного центра РАН. 2017. 19 (2): 248–251.
7. Макаров С.С., Багаев Е.С., Цареградская С.Ю., Кузнецова И.Б. Проблемы использования и воспроизводства фитогенных пищевых и лекарственных ресурсов леса на землях лесного фонда Костромской области // ИВУЗ. Лесной журнал. 2019. 6: 118–131. DOI: 10.37482/0536-1036-2019-6-118.
8. Donnelly D.J., Stace-Smith R., Mellor F.C. In Vitro Culture of Three *Rubus* Species // Acta Horticulturae. 1980. 12: 69–75.
9. Патент RU 2 080 059 C1, А 01 Н 4/00. Способ получения растений-регенерантов малины *in vitro* / В.А. Высоцкий, Ф.Н. Соломонова. 27.05.1997.
10. Патент RU 2 111 653 C1, А 01Н 4/00. Питательная среда для укоренения растений *in vitro* / М.Т. Упадышев, А.В. Гуськов. – 27.05.1998.
11. Зонтиков Д. Н., Зонтикова С.А., Малахова К.В. Влияние состава питательных сред и регуляторов роста при клональном микроразмножении некоторых хозяйственно ценных представителей рода *Rubus* L. // Агрехимия. 2021. 6: 36–42.
12. Макаров С.С., Тяк Г.В., Кузнецова И.Б., Чудецкий А.И., Цареградская С.Ю. Получение посадочного материала *Rubus arcticus* L. методом клонального микроразмножения // ИВУЗ. Лесной журнал. 2021. 6: 89–99. DOI: 10.37482/0536-1036-2021-6-89-99.

## **ВЫДЕЛЕНИЕ ШТАММОВ *TRICHODERMA* С ПОВЕРХНОСТИ *PINUS SYLVESTRIS* L. И ИЗУЧЕНИЕ ИХ АКТИВНОСТИ**

**Думачева Е.В., Максимова П.В., Акимов А.В., Гаар А.В.**

**ФГБНУ «Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В.Р. Вильямса» (ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса»),  
Московская область, г. Лобня, Научный городок, корпус 1, 141055;  
E-mail: dumacheva@vniikormov.ru**

Для экосистем различных регионов Российской Федерации особое значение имеет вид *Pinus sylvestris* L. – сосна обыкновенная. Благодаря своим уникальным морфо-биологическим свойствам, способности произрастать на разнообразных почвенных субстратах, культура сосны привлекает внимание исследователей к изучению ее микробиома [1-3]. Хорошо известна способность сосны к симбиозу с полезной почвенной микрофлорой и образованию арбускулярной микоризы, которая генерирует разнообразный микробоценоз [4,5]. Перспективными микромицетами являются представители рода *Trichoderma* sp. С одной стороны, они обладают антагонизмом по отношению к ряду патогенных грибов и микроорганизмов, с другой, показана положительная роль обработки штаммами *Trichoderma* в подавлении патогенной микрофлоры на ряде сельскохозяйственных культур [6-9].

Целью исследования являлось выделение и изучение перспективных микромицетов рода *Trichoderma*, взятых с поверхности различных частей сосны обыкновенной (*P. sylvestris*). Сбор биоматериала для выделения образцов *Trichoderma* проводили с поверхностей поваленных стволов, ветвей и корней *P. sylvestris* вблизи поселка Ермолино, Дмитровский округ, Московская область (56.137764, 37.484621). Отобранные образцы были помещены в подготовленные влажные камеры, где проходило их культивирование в термостате при температуре 25 °С в течение 48 ч. Выросшие плесневые грибы помещали на твердую питательную среду Сабуро для дальнейшего роста (27 °С, 72 ч.). Для получения биомассы и получения культуральной жидкости со спорами грибов проводили посев в жидкий питательный бульон Чапека и затем культивировали в термостате при температуре 27 °С в течение 96 ч. при постоянном помешивании шейкера 150 об./ мин. В результате были выделены 4 штамма плесневых грибов рода *Trichoderma* со следующими морфологическими признаками: колонии зеленого цвета, пушистые. Штаммам были даны рабочие названия: ТР 1, ТР 3.1, ТР 3.2, и ТР 4. На их основе приготовлены 4 суспензии, состоящие из культуральной жидкости и стерильной воды в соотношении 1:1.

С полученными штаммами плесневых грибов был поставлен эксперимент для оценки их потенциальных фунгицидных свойств. В качестве тест-объекта были использованы кормовые бобы (*Vicia faba* L.). Посев проводили в мини-парниках для рассады, наполненных песком с грунтом в соотношении 2:1. В одну ячейку кассеты помещали по 2 боба. Повторность опыта трехкратная (в одной повторности 12 бобов).

Варианты опыта: контроль (H<sub>2</sub>O), обработка суспензиями из ТР 1, ТР 3.1, ТР 3.2, ТР 4, а также вариант TV – обработка биофунгицидным препаратом на основе *Trichoderma viride* (штамм 471 ГНУ ВНИИСХМ РАСХН, ТМ «Ваше Хозяйство», приготовление раствора выполнено согласно инструкции производителя). Обработку семян бобов перед посевом проводили путем замачивания в растворе определенного штамма в течение 1 ч. Кассеты с семенами помещали в климатическую камеру Фитотрон ЛиА-1 при температуре 20 °С, влажности 60 %, световом периоде 12 ч. Результаты опыта обработаны статистически с использованием пакета программ Excel. На 7-е сутки подсчитывали количество проросших и не проросших семян (%). На 10-е сутки проростки извлекали из грунта, промывали проточной водой и измеряли длину корня (см), гипокотилия (см) и массу проростков (г), а также оценивали степень пораженности (балл 0 – отсутствие поражения; 5 – обширное поражение плесневыми грибами).

На 7-е сутки доля проросших семян у контрольного варианта составила – 66,7 %; у опытных вариантов изменялась от 38,9 % у TV до 86,1 % у ТР 4, что превысило контрольный вариант на 19,4 %.

На 10-е сутки длина корня проростков у контрольного варианта составила 8,9±3,1 см (Cv= 43,0 %), у опытных вариантов длина корня уступала контролю на 0,2-5,2 см или на 2,5-58,3 %, при Cv=43,0–53,6 %. Длина гипокотилия у проростков бобов составила у контроля – 18,7±5,3 см (Cv=35,0 %), вариант с обработкой суспензией ТР 3.1 превышал контроль на 1,6 см (8,4 %), при Cv=17,9 %, а остальные уступали контролю на 1,6–3,6 см (8,4–15,7 %) при Cv=33,2–51,1 %. Масса проростков составила у контроля – 3,2±0,7 г (Cv=19,6 %), варианты с обработкой суспензиями уступали контролю на 0,16–0,8 г (5,0–17,6 %) при Cv=22,4–32,3 %. Достоверных различий по показателям роста и массе проростков между вариантами не установлено.

При оценке степени пораженности установлено, что наиболее эффективно подавляли патогенные микроорганизмы, находящиеся на поверхности семян суспензии штаммов ТР 1, ТР 3.1, ТР 3.2 и биофунгицидный препарат *Trichoderma viride* (штамм 471). В вариантах Т 4 и контрольном проростки были обширно поражены патогенными плесневыми грибами. Учитывая выявленную антагонистическую активность выделенных штаммов *Trichoderma* против патогенных бактерий и грибов, планируется продолжить их изучение в серии как лабораторных, так и полевых экспериментов на различных сельскохозяйственных культурах.



Исследования выполнены при поддержке Нацпроекта «Наука и университеты» на создание молодежной лаборатории в рамках Госзадания FGGW-2022-0013 «Разработка теоретических основ ускорения интродукции, селекции и повышения эффективности семеноводства сельскохозяйственных растений на основе оценки сопряженности фундаментальных физиологических процессов».

#### **Список литературы:**

1. Kosolapov V. M., Cherniavskih V. I., Dumacheva E. V. et al. Using microorganismal consortium and bioactive substances to treat seeds of two scots pine ecotypes as a technique to increase re-afforestation efficiency on chalk outcrops // *Forests*. 2023. Vol. 14, No. 6. P. 1093.
2. Kosolapov V. M., Cherniavskih V. I., Dumacheva E. V. et al. Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.) Ecotypes Response to Accumulation of Heavy Metals during Reforestation on Chalk Outcrops / *Forests*. 2023. V. 14, № 7. P. 1492.
3. Cherniavskih V. I., Dumacheva E. V., Markova E. I. Assessment of the state and restoration of biological resources of scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in the south of the central Russian // *Journal of Physics: Conference Series* : 6, Moscow, 23–27.11.2020. Moscow, 2021. P. 012080.
4. Rieksts-Riekstiņš R., Zeltiņš P., Baliuckas V. et al. *Pinus sylvestris* breeding for resistance against natural infection of the fungus *Heterobasidion annosum* // *Forests*. 2020. Vol. 11, No. 1. P. 23.
5. Wang D. D. et al. Diversity of microbial communities of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* at spatial scale // *Microorganisms*. 2022. V. 10, No. 2. P. 371.
6. Oros, G. And Naár, Z. Mycofungicide: Trichoderma Based Preparation for Foliar Applications // *American Journal of Plant Sciences*. 2017. No. 8. P. 113–125.
7. Buysens C. et al. Inoculation of *Medicago sativa* cover crop with *Rhizophagus irregularis* and *Trichoderma harzianum* increases the yield of subsequently-grown potato under low nutrient conditions // *Applied Soil Ecology*. 2016. V. 105. P. 137–143.
8. Скамарохова А. С., Юрина Н. А., Гнеуш А. Н. Биоудобрение для повышения урожайности зеленой массы вико-пшеничной травосмеси // *Международный научно-исследовательский журнал*. 2021. №. 7–1 (109). С. 137–140.
9. Чекалова К. В. Разработка новой препаративной формы биологических фунгицидов на основе клеток микроорганизмов *Trichoderma viride* и *Pseudomonas fluorescens*. Дисс. на соиск... к.с.-х.н. М., 2007. 162 с.

### **СОЗДАНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТОМАТА, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ГЕНЫ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ Sm-AMP-D, Sm-AMP-X и NsLTP1**

**Михель И.М.**

**ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550;  
E-mail: joseph.mikhel@gmail.com**

Для томата описаны более 200 заболеваний по всему миру [1], что делает актуальной задачу защиты томата от фитопатогенов. Введение в геном гетерологичных генов защитных белков и антимикробных пептидов является широко используемой генно-инженерной стратегией создания растений, устойчивых к инфекциям [2].

Растительные антимикробные пептиды Sm-AMP-D и Sm-AMP-X из звездчатки средней *S. media* L. и липид-переносящий белок NsLTP1 из семян черного тмина (*N. sativa* L.) подавляют развитие ряда хозяйственно важных патогенов томата (*B. cinerea*, *F. solani*, *P. infestans*, *F. oxysporum* и др.) [3, 4, 5]. Для получения трансгенных растений томата,

экспрессирующим данные пептиды, были сконструированы три бинарных вектора на основе плазмиды pC2301, содержащие рекомбинантные гены *Sm-AMP-D*, *Sm-AMP-X* и *NsLTP1*, оптимизированные по составу кодонов для экспрессии в растениях томата, и клонированы в клетки *A. tumefaciens* (штамм AGL0) для последующей трансформации. Для создания векторов были использованы различные растительные промоторы: для *SmAMP-D* и *SmAMP-X* – делеционные варианты собственных промоторов, для *NsLTP1* – промотор гена гевеинподобного пептида SmAMP1 из *S. media* L; для этих промоторов ранее была показана эффективность экспрессии целевого гена, сопоставимая с эффективностью промотора CaMV35S [6, 7].

В качестве исходного материала для трансформации используются семядоли 10-14-дневных асептических проростков томата селекционной линии ЯЛФ. Экспланты инокулируют в разбавленной суспензии *A. tumefaciens*; затем сокультивируют в течение 72 часов в темноте. Элиминацию агробактерии проводят промывкой эксплантов в неагаризованной среде MS, дополненной 800 мг/л амоксицикла, затем экспланты переносят на агаризованную среду MS для каллусо- и морфогенеза, с добавлением 800 мг/л амоксицикла, с постепенным повышением концентрации канамицина при культивировании с 10 до 50 мг/л, для проведения селективного отбора. Регенерировавшие побеги отделяются от каллуса и помещаются в среду для укоренения, содержащую 0,5 мг/л ИМК и 50 мг/л канамицин.

К настоящему времени получены шесть линий томата ЯЛФ с геном *Sm-AMP-D*, и по две линии с *Sm-AMP-X* и *NsLTP1*, для которых данными ПЦР подтверждено наличие трансгенной вставки. Все полученные линии адаптированы к почвенным условиям. Для одной из трансгенных линий с геном *Sm-AMP-X* к настоящему времени получены семена. Продолжается отбор первичных трансформантов, планируются молекулярно-генетические исследования и анализ экспрессии генов АМП для полученных ранее линий.

#### Список литературы:

1. Panno S., Davino S., Caruso A.G., Bertacca S., Crnogorac A., Mandić A., Noris E., Matić S. A review of the most common and economically important diseases that undermine the cultivation of tomato crop in the mediterranean basin // *Agronomy*. 2021, 11(11), p.2188.
2. Khaliluev M.R., Shpakovskii G.V. Genetic engineering strategies for enhancing tomato resistance to fungal and bacterial pathogens. *Russian journal of plant physiology*. 2013 Nov;60:721-32.
3. Slavokhotova A.A., Odintsova T.I., Rogozhin E.A., Musolyamov A.K., Andreev Y.A., Grishin E.V., Egorov T.A. Isolation, molecular cloning and antimicrobial activity of novel defensins from common chickweed (*Stellaria media* L.) seeds // *Biochimie*. 2011, V. 93, 3, pp. 450-456.
4. Slavokhotova A.A., Rogozhin E.A., Musolyamov A.K., Andreev Y.A., Oparin P.B., Berkut A.A., Vassilevski A.A., Egorov T.A., Grishin E.V., Odintsova T.I. Novel antifungal a-hairpinin peptide from *Stellaria media* seeds: structure, biosynthesis, gene structure and evolution // *Plant Molecular Biology*. 2013.
5. Oshchepkova Y.I., Veshkurova O.N., Rogozhin E.A., Musolyamov A.K., Smirnov A.N., Odintsova T.I., Egorov T.A., Grishin E.V., Salikhov S.I. Isolation of the lipid-transporting protein Ns-LTP1 from seeds of the garden fennel flower (*Nigella sativa*). *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2009 May;35:315-9.
6. Иванова, Л. А., Комахин, Р. А. Сравнительный структурный анализ нового промотора pro-Sm-AMPX ИЗ РАСТЕНИЯ STELLARIA MEDIA. *Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии*, 2020, 27, 36
7. Efremova L.N., Strelnikova S.R., Gazizova G.R., Minkina E.A., Komakhin R.A. A synthetic strong and constitutive promoter derived from the stellaria media pro-SmAMP1 and pro-SmAMP2 promoters for effective transgene expression in plants. *Genes*. 2020 Nov 26;11(12):1407.

## ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* *HALOXYLON APHYLLUM* И *HALOXYLON PERSICUM*

Моисеева Е. А., Маталин Д.А., Степанова А. Ю.

**ФГБУН «Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН»  
(ФГБУН ИФР РАН), Москва 127276;  
E-mail: ifr@ippras.ru**

Саксаул (*Haloxylon*) – один из пустынных древесных кустарников, относится к семейству Амарантовых. Граница области распространения почти совпадает с границей пустынь и полупустынь Азии. Древесина саксаула является отличным топливом по калорийности мало уступает углю.

Два вида саксаула – черный (*Haloxylon aphyllum*) и белый (*Haloxylon persicum*) – представляют наибольший хозяйственный интерес. Кора белого саксаула светло-серая, на молодых ветвях – беловатая. Этот вид является хорошим кормовым растением. Его поедают верблюды, каракульские овцы, козы и ослы. Черный саксаул получил свое название за его более темный по сравнению с белым саксаулом цвет. Ветви его темно-зеленого цвета, ярче и темнее, чем у белого саксаула. Этот вид служит защитой оазисов от засыпания подвижными песками.

Одной из тяжелых экологических катастроф является опустынивание Аральского моря, что, в конечном итоге, приводит к засолению и загрязнению пестицидами близлежащих территорий. Для решения этой проблемы, засаживают, в первую очередь, черный саксаул, так как он более устойчив к засолению и является хорошим закрепителем песка; и белый саксаул, мощная корневая система которого осуществляет регуляцию содержания органических веществ в песчаной почве. В настоящее время очень мало работ по введению в культуру *in vitro* саксаула. Однако такие работы имеют большое прикладное и экологическое значение. Целью настоящей работы было получение каллуса и регенерации растений двух видов саксаула – *Haloxylon aphyllum* (саксаула черного) и *Haloxylon persicum* (саксаула белого).

В работе использовали семена, собранные в 2023 году в районе города Нукус, Узбекистан. Для получения асептического материала семена двух видов саксаула очищали от характерных «крыльев», мыли под проточной водой, затем стерилизовали 96% спиртом 5 секунд и коммерческим отбеливателем «Белизна» – 15 минут, после чего промывали три раза стерильной дистиллированной водой. Для лучшего прорастания семена после стерилизации оставляли на 4 часа в воде. Было простерилизовано 103 семени саксаула черного и 92 – саксаула белого. На 2-3 сутки наблюдали прорастание семян. Всхожесть составляла 82% и 61% для черного и белого саксаула, соответственно. Контаминации составляла 19% у черного саксаула и 20% – у белого. Однако, при увеличении продолжительности стерилизации, резко падала всхожесть семян.

В качестве эксплантов для получения каллусов использовали гипокотили, стебли и семядоли 2-3 недельных проростков. Экспланты высаживали на среды разного минерального состава: Мурасиге-Скуга, В<sub>5</sub> (среда по Гамборгу), BRP (В<sub>5</sub>+200 мг/л КNO<sub>3</sub> + 146 мг/л NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>). Последняя минеральная среда была предложена авторами Рамирез и Бернбаум для получения каллусов *Haloxylon aphyllum*. Использовали следующее соотношение гормонов: а) 1,0 мг/л 2,4-Д и 0,1 мг/л БАП; б) 1,0 мг/л 2,4-Д и 0,1 мг/л кинетин. Таким образом, исследовали 6 вариантов различных сред. Каллусы культивировали в течение 28 дней, затем пересаживали на новую среду.

Образование каллусов наблюдалось на 16-18 сутки культивирования на среде MS и на 26-28 сутки – на средах В<sub>5</sub> и BRP. Наблюдали различия в каллусной культуре между двумя видами саксаула: каллус саксаула черного был средней плотности, насыщенного темно-зеленого цвета; каллус саксаула белого – рыхлый, светло-зеленого, слегка

желтоватого цвета. Интактные растения также различаются по цвету, что, видимо, сохраняется и на уровне каллусных культур. Частота каллусообразования составляла 86-100% на всех средах для обеих культур. Однако при последующих пассажах наблюдали некротизацию до 60% каллусов на средах В<sub>5</sub>, ВРР и МС + кинетин. Только на среде МС+1,0 мг/л 2,4-Д и 0,1 мг/л БАП каллус сохранил жизнеспособность, поэтому данная среда была выбрана для дальнейшего культивирования.

Для регенерации каллусы обоих видов саксаула пересаживали на среду МС: а) без гормонов; б) 3,0 мг/л БАП и 0,1 мг/л НУК; в) 5,0 мг/л БАП и 0,5 мг/л НУК; г) 7 мг/л БАП и 1 мг/л НУК. На 30-40-е сутки культивирования наблюдалось образование единичных побегов только на среде МС с 5,0 мг/л БАП и 0,5 мг/л НУК. Индекс роста на данной среде составил 4,9 и 5,2 для черного и белого саксаула, соответственно. В дальнейшем побеги были отделены и пересажены на среду МС с 1 мг/л НУК для укоренения. Необходимо отметить, что способность к образованию побегов сохранялась только в течение двух пассажей. Повышение содержания гормонов до 7,0 мг/л БАП и 1 мг/л НУК не приводило к увеличению частоты побегообразования. Однако на данной среде наблюдалось усиление роста каллусов саксаула белого, и, наоборот, снижение роста каллусов саксаула черного. В случае использования среды МС без гормонов наблюдался некроз 90% каллусов у саксаула белого, однако у саксаула черного происходило образование корней без побегов.

Таким образом, нами были подобраны условия стерилизации семян и получение каллусов саксаула белого и черного. Показано, что среда МС с добавлением 1,0 мг/л 2,4-Д и 0,1 мг/л БАП является оптимальной для каллусообразования исследуемых видов саксаула. Для регенерации использовали 5,0 мг/л БАП и 0,5 мг/л НУК, однако эта среда не является достаточно эффективной из-за быстрой потери культуры *in vitro* способности к образованию побегов. Оптимизация данной среды является основной задачей будущих исследований.

Ключевые слова: саксаул, культура *in vitro*, каллус, морфогенез, растения-регенеранты

#### Список литературы:

1. Леонтьев В. Л. Саксауловые леса пустыни Кара-Кум / В. Л. Леонтьев // М., Л. Изд-во АН СССР. – 1954.
2. Burnouf-Radosevich M., Paupardin C. Vegetative propagation of *Chenopodium quinoa* by shoot tip culture // American journal of botany. – 1985. – Т. 72. – №. 2. – С. 278-283.
3. Mohamed M. A. H., Assaeed A. M., Yousuf H. N. Micropropagation of the endangered desert shrub *Haloxylon persicum* // Australian Journal of Crop Science. – 2013. – Т. 7. – №. 2. – С. 255-260.
4. Ramirez A. E., Birnbaum E. H. Induction and characterization of callus in *Haloxylon aphyllum* (Minkw.) Iljin // IV International Symposium on *In Vitro* Culture and Horticultural Breeding 560. – 2000. – С. 465-468.

### ОТРАБОТКА МЕТОДИКИ ПОЛУЧЕНИЯ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ ЯЧМЕНЯ В КУЛЬТУРЕ ПЫЛЬНИКОВ

Петраш Н.В.\*, Бехтольд Н.П., Пискарев В.В.

Сибирский научно-исследовательский институт растениеводства и селекции  
– филиал Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики  
Сибирского отделения Российской академии наук  
(СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН), Новосибирск 630501;

\*E-mail: pnv11@bionet.nsc.ru

Удвоенные гаплоиды представляют значительный интерес для прикладных селекционных работ и фундаментальных исследований.

Многими условиями определяется успех технологии получения удвоенных гаплоидов ячменя. Помимо основного ограничивающего фактора «генотип» на конечный выход гаплоидов оказывает влияние выращивание донорных растений, способ и продолжительность предобработок, а также состав питательных сред. Поэтому актуальным остается подбор оптимальных методических протоколов.

В процессе отработки методики нами были опробованы разные способы выращивания донорных растений: поле, теплица, «Биотрон-4». Выявлено, что развитие микроспор ячменя сильно зависит от температурного режима. Выращивание растений при температуре около 24 °С в условиях теплицы приводит к появлению слабых тонких колосьев с мелкими пыльниками, причем микроспоры развиваются очень быстро и зачастую визуально подходящие колосья уже содержат пыльники со зрелой пылью. В полевых условиях не всегда удается получить растения в нужной стадии развития, поскольку из-за частой жары в летний период микроспоры стремительно развиваются, и становится сложно уловить необходимую фазу. Для успеха опыта важно создавать контролируемый температурный режим день/ночь около 14/18 °С.

В качестве морфологического маркера для отбора колосьев использовали величину трубки от флагового листа до влагалища второго сверху листа. Установлено, что этот параметр тесно связан с развитием микроспор внутри пыльников [1, 2], однако для каждого новых условий выращивания необходимо проводить цитологический мониторинг микроспор с целью сопоставления оптимальной стадии развития с морфологическим маркером.

Отработку методики получения удвоенных гаплоидов ячменя проводили на гибридном материале. Скрещивания выполняли с целью создания нового исходного селекционного материала, устойчивого к возбудителю пыльной головни ячменя (*Ustilago nuda*). Донорами устойчивости выступали сорта с эффективным геном *Run 8*.

Нами опробовано несколько протоколов культивирования пыльников ячменя. Первый опыт проводили по методике L. Ohnoutkova и др. [3]. Он включает холодовую предобработку в течение 7–21 дней при +4 °С и использование агаризованной индукционной среды Chu, N6 с добавлением 2,0 мг/л 2,4-Д, 0,5 мг/л НУК и 0,5 мг/л кинетина.

Второй опыт проводили согласно протоколам L. Cistue и др. [4] и V. Echavarrí и L. Cistue [5]. Основное их отличие от первого заключается в использовании стрессовой предобработки пыльников на среде с 0,7 М маннитолом и 1 % ДМСО и использовании жидкой индукционной среды с фиконом 400.

При культивировании пыльников ячменя в опыте 1 на индукционной среде развивались преимущественно разросшиеся каллусы, которые регенерировали с низкой частотой (0,4 %). Регенерация зеленых проростков составила 0,2 %. В опыте 2 с применением жидкой индукционной среды образовывалось большое количество андрогенетических структур, частота регенерации всех проростков составила 13,32 %, из них зеленых регенерантов – 3,17 %. Опыт со вторым протоколом оказался более успешным. Однако использование среды с маннитолом для предобработки пыльников, стерилизация питательной среды методом фильтрации и частые манипуляции со стерильными объектами создавали значительные технические и материальные сложности.

В последующих работах мы поставили цель отработать протокол, не требующий больших технических и материальных затрат. Стрессовую предобработку проводили в термостате при +4 °С 7–9 дней, срезанные колосья выдерживали в 0,7 М растворе маннитола и 1 % ДМСО. Затем выделяли пыльники на автоклавированную жидкую среду по прописи FHG [6] с добавлением 100 г/л фикола 400 и 1 мг/л БАП. Индукцию проводили в темноте при температуре 25 °С. Появление первых регенерантов отмечено

через 16 дней от начала индукции. Частота регенерации всех проростков по данной методике составила 27,73 %, зеленых проростков – 2,73 %.

Таким образом, нами опробована адаптивная методика получения удвоенных гаплоидов ячменя с выходом зеленых растений более 2,5 %. В ходе проведенных опытов нами было создано несколько ДН-линий ячменя, устойчивых к пыльной головне.

Работа поддержана бюджетным проектом ИЦиГ СО РАН № FWNR-2022-0008.

#### **Список литературы:**

1. Попова К. И. и др. Влияние сроков посева растений-доноров и концентрации 2, 4-Д на чистоту образования продуктивных пыльников ячменя обыкновенного (*Hordeum vulgare* L.) в культуре пыльников *in vitro* // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2021. – № 3. – С. 47-56.

2. Castillo A. M. et al. Bread wheat doubled haploid production by anther culture // Doubled Haploid Technology: Volume 1: General Topics, Alliaceae, Cereals. – 2021. – С. 227-244.

3. Ohnoutkova L., Vlcko T., Ayalew M. Barley anther culture // Harwood W. (eds) Barley. Methods in Molecular Biology. Humana Press, New York, NY. – 2019. – V. 1900. – P. 37-52. DOI: 10.1007/978-1-4939-8944-7\_4

4. Cistué L., Valles M.P., Echávarri B., Sanz J.M., Castillo A. Barley anther culture // Maluszynski M., Kasha K. J., Forster B. P., Szarejko I. (eds) Doubled Haploid Production in Crop Plants. Springer, Dordrecht, 2003. – P. 29-34. DOI: 10.1007/978-94-017-1293-4\_5

5. Echávarri B., Cistué L. Enhancement in androgenesis efficiency in barley (*Hordeum vulgare* L.) and bread wheat (*Triticum aestivum* L.) by the addition of dimethyl sulfoxide to the mannitol pretreatment medium // Plant Cell Tissue and Organ Culture. – 2016. – V. 125. – P. 11-22. DOI: 10.1007/s11240-015-0923-z

6. Hunter C. P. European Patent Application. – No 0245898 A2, Shell Int. Res. – 1987. – P. 1-8.

## **ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ СОРТОВ ЯРОВОЙ И ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВ**

**Присяжной Н.А.**

**ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550**

Изучение воздействия светового и солевого стрессов на рост и развитие пшеницы не только актуально для сельского хозяйства в целом, но и имеет прямое практическое значение для повышения уровня производства зерна и улучшения качества продукции в стране.

Целью данных исследований – изучить влияние солевого и светового стресса на рост и развитие сортов яровой и озимой пшеницы.

Исследования позволяют лучше понять механизмы адаптации растений к изменяющимся условиям среды и выявить способы повышения урожайности при неблагоприятных условиях. Полученные результаты могут послужить основой для разработки новых сортов растений, способных эффективнее расти и развиваться в условиях стресса.

Объектом исследований являлись: яровая пшеница сорта КВС Аквилон и озимая пшеницы сорта Рубежная.

Были проведены лабораторные опыты по выявлению всхожести семян пшеницы в условиях солевого стресса, а также исследование по влиянию засоления и светового

стресс-фактора на семена и проростки пшеницы сортов КВС Аквилон и Рубежная. Растения пшеницы выращивались в световом боксе, при температуре 20-25 °С, и относительной влажности воздуха не более 70 %, на субстрате Перлит.

Для определения содержания ионов листья и корни растений высушивали при 105°С двое суток и измельчали до порошкообразного состояния. Ионы из высушенных органов извлекали водной экстракцией при 100°С. Концентрации ионов калия, натрия, кальция в экстрактах измеряли на пламенном фотометре ФПА-2-01 (Россия), нитрат – ион-селективным электродом «Эксперт-002». Хлорид – меркурометрическим методом с использованием полуавтоматического титратора Top Buret H digital burette (Eppendorf, Германия). Измерения нитратов проводили с помощью ионоселективного электрода "Эксперт-002" ("Эконикс", Россия).

Присутствие соли существенно тормозило как прорастание, так и дальнейший рост растений. Выявлено действие солевого стресса на рост и развитие растений сорта озимой пшеницы Рубежная и яровой пшеницы КВС Аквилон. Показано торможение процессов роста и развития растений яровой короткостебельной пшеницы сорта КВС Аквилон и озимой длинностебельной пшеницы сорта Рубежная, и дальнейшая неспособность их выйти в фазу кущения. При этом отмечается неодинаковая способность накапливать ионы, СГ и оводнённости растений.

В условиях солевого стресса и освещения различными спектрами света яровая пшеница сорта КВС Аквилон более устойчива и накапливает хлорид - ионы гораздо интенсивнее, чем озимая пшеница сорта Рубежная.

В присутствии красного спектра света, в условиях солевого стресса, яровая и озимая пшеницы имели более мощную вегетативную надземную часть и более разветвлённую и длинную корневую систему, по сравнению с растениями, выращенными под синим светом. Так длина листьев яровой пшеницы КВС Аквилон отличалась в вариантах с красным и синим спектром света на 22% по сравнению с контрольным вариантом, а с белым на 39 и 61% соответственно.

Белый спектр света являлся наиболее оптимальным для роста и развития пшеницы как при оптимальном минеральном питании, так и в случае солевого стресса.

## **УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ОБРАБОТКА ПОБЕГОВ МЯТЫ ПЕРЕЧНОЙ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПАРОВОЙ ДИСТИЛЛЯЦИИ ЭФИРНОГО МАСЛА**

**Радченко Л.Н., Диловарова Т.А., Коновалова Л.Н., Баранова Е.Н.**

***ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт  
сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550  
E-mail: radczenko@vk.com***

Эфирное масло из мяты получают методом паровой дистилляции измельчённых побегов растений. Для увеличения выхода масла можно использовать ультразвуковую обработку измельчённых частей побегов. Существует несколько алгоритмов обработки ультразвуком, которые отличаются между собой порядком и количеством обработок ультразвуком, чередующиеся экстракцией масла.

Цель данной работы заключается в анализе различных вариантов обработки растений перед паровой дистилляцией, и проведении эксперимента для выявления наиболее эффективного алгоритма.

Для получения образцов растений мяты были отобраны образцы из *in vitro* коллекции и размноженные при использовании технологии клонального микроразмножения растений гибридной мяты с высоким и низким содержанием ментола

Митченская, Линалоольная, Памяти Кириченко. Сначала растения были *in vitro* размножены до 160 регенерантов и адаптированы к субстрату на основе мха сфагнума. Затем данные растения были пересажены в горшки с торфопесчаной смесью и накрыты на время адаптации индивидуальными пластиковыми контейнерами на период адаптации, приживаемость составила 100%. Растения культивировали по три в двухлитровых контейнерах в оранжерее при естественном освещении. Сбор мяты проводился во время цветения более 75% всех растений.

Для обработки ультразвуком была использована ультразвуковая ванна. Дистилляция проводится в перегонной установке с колбами объемом 2л и змеевиковым холодильником.

Для эксперимента использовали собранные побеги растений мяты, которые измельчили на небольшие части. Полученные образцы распределили на 4 равные группы, которые обрабатывались следующим образом:

1. Контрольная группа, образцы в которой не обрабатываются предварительно ультразвуком;
2. Группа А с однократной обработкой ультразвуком перед экстракцией;
3. Группа Б, в которой проводится экстракция масла, затем использованная мята обрабатывается ультразвуком, после чего проводится повторная экстракция;
4. Группа В, в которой используется предварительная обработка ультразвуком, после которой экстракция, затем повторная обработка ультразвуком, после чего проводится вторая экстракция.

После окончания дистилляций сравнили объем полученного масла каждой из групп.

Ультразвуковая обработка водных растворов как на основе свежего, так и на основе высушенного сырья увеличивала выход эфирных масел.

#### **Список литературы:**

1. Абашкин, И.А. Методы экстракции биологически активных веществ из растительного сырья / И.А. Абашкин [и др.] // Химия и технология органических веществ. – 2021.
2. Shelepova, O.V.; Dilovarova, T.A.; Gulevich, A.A.; Olekhovich, L.S.; Shirokova, A.V.; Ushakova, I.T.; Zhuravleva, E.V.; Konovalova, L.N.; Baranova, E.N. Chemical Components and Biological Activities of Essential Oils of *Mentha × piperita* L. from Field-Grown and Field-Acclimated after In Vitro Propagation Plants/ / Agronomy 2021, 11, 2314. <https://doi.org/10.3390/agronomy11112314>

### **ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ УДОБРЕНИЙ НА ВОЛОСИСТЫЕ КОРНИ ШАФРАНА (*CROCUS SATIVUS* L.)**

**Рузметова Н.К.<sup>1</sup>, Хужамшукуров Н.А.<sup>2,4</sup>, Холмуродов Ч.А.<sup>3</sup>, Абдиназаров С.Х.<sup>4</sup>**

*1 – Хорезмская академия Маъмуна, Хорезмская область, Хива, 220900, Марказ, 1. Узбекистан, nodira.ruzmetova@bk.ru*

*2 – Ташкентский химико-технологический институт (ТХТИ), Ташкент, 100013, Узбекистан. nkhujamshukurov@mail.ru*

*3 – Ташкентского ботанического сада имени академика Ф.Н.Русанова при Институте ботаники АНР Уз, Ташкент, Боғишамол-232б, 100140, Узбекистан. abdinazarovsodiqjon@uzbbg.uz*

*4 – Научно-производственный центр по выращиванию и переработке лекарственных растений, Ташкент, Олтинтопган-15. Узбекистан. shifobaxsh\_export@mail.ru*



**Введение.** Выращивание шафрана (*Crocus sativus* L.) ведётся во всех регионах от 0° до 90° восточной долготы, то есть от Испании до Кашмира (Индия), от 30° до 45° северной широты, то есть от Персии до Англии, 80% доли в мире производства шафрана приходится на Иран, Испанию и Индию [Fazil et al., 2024]. Основными странами-производителями шафрана также признаны Италия, Марокко, Франция, Греция, Мексика и Китайская Народная Республика. Цена качественного шафрана оценивается в 15000-20000 евро/кг [Maleki et al., 2017]. В США к 2024 году оптовая цена одного килограмма шафрана оценивается от 813,04 до 1679,83 долларов, а оптовая цена одного фунта шафрана - от 368,72 до 761,83 долларов [Selina Wamucii, 2024]. В мире спрос на выращивание продукции на основе принципов органического земледелия растёт с каждым днём [Eshkobilov et al., 2023]. Широкое внедрение системы управления в сельскохозяйственную практику основанной на органическом или биологическом земледелии имеет важное значение для развития устойчивого сельского хозяйства.

В ходе исследований изучалось влияние биологических удобрений на волосистые корни в период роста шафрана. По полученным результатам отмечено количество волосистые корней шафрана в субстрате с биогумусом в концентрации 50 г/5 л (контрольный) составляет 89,85 штук, средняя длина корня - 9,73 см, средняя масса влажного корня - 4,36 грамма, а масса сухого корня 987,2 мг.

Установлено, что количество волосистые корней шафрана, выращенных в субстрате с концентрацией зоогумуса 10 г/5 л, составляет 92,11 штук, средняя длина корня - 10,45 см, масса влажного корня - 4,48 грамма, масса сухого корня составляет 390,2 мг. При сравнении этих показателей с контрольным установлено, что количество волосистые корней составило 2,26 штук, средняя длина корня меньше на 0,72 см, средняя масса влажного корня - 0,47 грамма, средняя масса сухого корня - 3,0 мг. Установлено, что количество волосистые корней шафрана, выращенных в субстрате с концентрацией зоогумуса 10 г/5 л, составило 92,11 штук, средняя длина корня - 10,45 см, масса влажного корня - 4,48 грамма, масса сухого корня составило 390,2 мг.

При сравнении этих показателей с контрольным было установлено, что количество волосистые корней составило 2,26 штук, средняя длина корня - 0,72 см, средняя масса влажного корня - 0,47 грамм, средняя масса сухого корня - 3,0 мг. Отмечено, что среднее количество волосистые корней шафрана, выращенных в зоогумусовом субстрате с концентрацией 20 г/5 л, составило 101,42 штук, средняя длина корня - 12,11 см, масса влажного корня - 5,53 грамма, масса сухого корня - 483,1 мг. При сравнении этих показателей с контрольным было установлено, что количество волосистые корней составило 11,57 штук, средняя длина корня - 2,38 см, средняя масса влажного корня - 1,17 грамм, средняя масса сухого корня - 95,9 мг. Отмечено, что среднее количество волосистые корней шафрана, выращенных в зоогумусовом субстрате с концентрацией 30 г/5 л, составило 108,23 штук, средняя длина корня - 14,76 см, масса влажного корня - 6,271 грамм, масса сухого корня - 548,2 мг. При сравнении этих показателей с контрольным было установлено, что количество волосистые корней составило 18,38 штук, средняя длина корня - 5,03 см, средняя масса влажного корня - 1,90 грамм, средняя масса сухого корня - 161,0 мг. Также при сравнении результатов, полученных на основе концентрации 30 г/5л, с результатами, полученными на основе концентрации 20 г/5л, количество волосистые корней шафрана составило 6,81 штук, средняя длина корня - 2,65 см, обнаружено, что влажная масса корня на 0,734 грамма, а средняя масса сухого корня на 65,1 мг показали высокие результаты.

Отмечено, что количество волосистые корней шафрана, выращенных в зоогумусном субстрате с концентрацией 40 г/5 л, составило 103,38 штук, средняя длина корня-14,13 см, масса влажного корня - 6,183 грамма, масса сухого корня - 537,6. мг. При сравнении этих показателей с контрольным было установлено, что количество волосистые корней составило 13,53 штуки, средняя длина корня - 4,40 см, средняя масса влажного

корня - 1,82 грамм, средняя масса сухого корня - 150,4 мг. При сравнении результатов, полученных на основе концентрации 40 г/5 л, с результатами, полученными на основе концентрации 30 г/5 л, количество волосистые корней шафрана было на 4,85 штук меньше, средняя длина корней - на 0,63 см меньше, масса влажного корня составила 0,088 грамм, средняя масса сухого корня - 0,088 грамма.

Установлено, что масса корня на 10,6 мг показала более высокий результат. Отмечено, что количество волосистые корней шафрана, выращенных в зоогумусовом субстрате с концентрацией 50 г/5 л, составило 103,23 штук, средняя длина корня - 12,56 см, масса влажного корня - 5,788 грамм, масса сухого корня - 528,9 мг.

Отмечено, что количество волосистые корней шафрана, выращенных в зоогумусовом субстрате с концентрацией 50 г/5 л, составило 103,23 штук, средняя длина корня - 12,56 см, масса влажного корня - 5,788 грамма, масса сухого корня - 528,9 мг. При сравнении этих показателей с контрольным было установлено, что количество волосистые корней составило 13,38 штук, средняя длина корня - 2,83 см, средняя масса влажного корня - 1,42 грамм, средняя масса сухого корня - 141,7 мг.

На основании полученных результатов сделан вывод, что по сравнению с биогумусом, который считается традиционным биологическим удобрением, важно выращивать шафран с использованием зоогумуса, полученного от съедобного насекомого *Tenebrio molitor*.

#### **Список литературы:**

1. Eshkobilov S A., Abdikholikova F.N., Kuchkarova D.X., Khujamshukurov N.A. 2023. Cultivation of Cucumbers in Greenhouse Conditions: No Chemical Pollution. European Journal of Applied Sciences, Vol - 11(3):750-792. <https://doi.org/10.14738/aivp.113.14926>
2. Fazil S., Asif M.Iqbal., Sofi M.D., Mahdi S.S., Jeelani F., Khan M.H., Allai B.A., Dar N.A., Mir H., Asif B. Shikari., Bangroo S., Soliha M., Tanveer A. Ahngar. 2024. Estimation of genetic variability in saffron (*Crocus sativus* L.) germplasm for morphological and quality traits. Journal of Scientific Research and Reports, 30(6). Pp. 745-763.
3. Maleki F., Kazemi H., Siahmarguee A., Kamkar B. 2017. Development of a land use suitability model for saffron (*Crocus sativus* L.) cultivation by multi-criteria evaluation and spatial analysis. Eco Eng. 106. Pp.140-153. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.05.050>
4. Ruzmetova N.K., Abdinazarov S.X., Juraev G.N., Khujamshukurov N.A. 2024. Influence of biological fertilizers on saffron (*Crocus sativus* L.) productivity. Scientific Bulletin of Namangan State University. Vol.8. Pp.105-113.
5. Selina Wamucii. 2024. <https://www.selinawamucii.com/insights/prices/united-states-of-america/saffron/>

### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ФИТОГОРМОНОВ НА РОСТ И НАКОПЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ СУСПЕНЗИОННЫМИ КЛЕТКАМИ ГОЛУБИКИ ЩИТКОВОЙ *VACCINIUM CORYMBOSUM* L.**

**Рыбин Д.А., Сухова А.А., Сёмин А.А., Березина Е.В., Брилкина А.А.**

***Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,  
Нижний Новгород, 603950, пр. Гагарина, 23;  
E-mail: dmitr.rybin.1998@mail.ru***

Фенольные соединения являются широко распространённой группой вторичных метаболитов, накапливаемых клетками растений, и играющих важную роль в их обмене веществ. Наиболее перспективными для получения фенольных соединений являются

суспензионные культуры растительных клеток *in vitro*, так как химический синтез трудоемок и доступен не для всех соединений, а выращивание целого растения часто не экономически выгодно. Голубика щитковая является ценным растением т.к. в своих клетках накапливает большое количество фенольных соединений, такие как флавоноиды, катехины, проантоцианидины.

Внесение экзогенных фитогормонов в питательную среду является неотъемлемой частью получения суспензионных клеток, так как фитогормоны оказывают непосредственное влияние как на прохождение клеточного цикла, так и на накопление различных метаболитов в том числе продуктов вторичного метаболизма. Поэтому для получения активно растущей клеточной суспензии необходимо в питательную среду внести оптимальное сочетание фитогормонов, при котором клетки будут стабильно набирать клеточную массу, иметь высокую жизнеспособность, а также накапливать фенольные соединения.

Цель работы: выявление влияния фитогормонов на рост культур суспензионных клеток голубики щитковой, и накопление ими фенольных соединений.

Культуры суспензионных клеток голубики были получены из каллусов листового происхождения. Условия для культивирования каллусов и суспензий следующие: клеточные культуры выращивали в темноте в течении 30 суток, при 22 °С, в питательной среде WPM (с агар-агаром для каллусов) с разными концентрациями фитогормонов 2,4-Д/БАП: 0,35/0,45 мкМ; 1,69/2,25 мкМ; 3,5/4,5 мкМ. Для культур суспензионных клеток использовали орбитальный шейкер с 120 об/мин и радиусом вращения 2 см. Для определения влияния фитогормонов на ростовые параметры культур суспензионных клеток и накопление ими фенольных соединений в конце 4, 8 и 12 пассажей определяли сырую и сухую массу, жизнеспособность, содержание растворимых фенольных соединений (РФС) (Запрометов, 1971), флавоноидов (Gunes, Liu, Watkins, 2002), катехинов (Запрометов, 1971), проантоцианидинов (Хишова, Бузук, 2006).

Культуры суспензионных клеток в присутствии различных концентраций фитогормонов при длительном пассировании по-разному наращивали свою клеточную массу. Так сырая и сухая масса клеток, культивируемых в присутствии 0,35/0,45 мкМ 2,4-Д/БАП, после 12 пассажа была больше, чем у клеток этой линии после 4 пассажа в 3 раза. В случае использования 1,69/2,25 мкМ 2,4-Д/БАП увеличение массы происходило только в 2 раза. Масса клеток в присутствии 3,5/4,5 мкМ 2,4-Д/БАП, напротив, к 12 пассажу снижалась более чем в 3 раза. Максимальная сырая масса клеток, полученная в конце одного пассажа, составляла 15,98 грамм на 100 мл для клеточных суспензий в присутствии 0,35/0,45 мкМ 2,4-Д/БАП.

Клеточные суспензии голубики характеризуются большим накоплением фенольных соединений. Содержание растворимых фенольных соединений в клетках составило 98-118 мг/г сухой массы, флавоноидов 56-86 мг/г сухой массы, катехинов 17-28 мг/г сухой массы, проантоцианидинов 12-20 мг/г сухой массы. В ходе длительного пассирования у клеточных суспензий в присутствии 0,35/0,45 мкМ 2,4-Д/БАП наблюдалось увеличение содержания РФС, катехинов и проантоцианидинов, так содержание РФС в 12 пассаже увеличилось в 1,5 раза, а катехинов и проантоцианидинов более чем в 2 раза, содержание флавоноидов было постоянным. Клеточные суспензии в присутствии 1,69/2,25 мкМ 2,4-Д/БАП сохраняли одинаковый уровень накопления фенольных соединений в течении 12 пассажей, в отличии от клеток, культивируемых в присутствии 3,5/4,5 мкМ 2,4-Д/БАП, где наблюдалось снижение уровня РФС и флавоноидов в 1,2 и 1,3 раза соответственно по сравнению с уровнем 4 пассажа.

Таким образом, культура суспензионных клеток выращенная в присутствии 2,4-Д/БАП 0,35/0,45 мкМ имеет лучшие показатели роста сырой и сухой массы в течении пассажей, так и накопление растворимых фенольных соединений, в отличии от культур суспензионных клеток с другими сочетаниями фитогормонов (1,69/2,25 и 3,5/4,5 мкМ 2,4-Д/БАП). Можно предположить, что минимальная из использованных концентраций

фитогормонов больше подходит для получения и длительного культивирования суспензионных клеток голубики щитковой и сохранению ими способности к накоплению фенольных соединений.

Работа выполнена при поддержке программы стратегического академического лидерства "Приоритет 2030" Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

#### **Список литературы:**

1. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и методы их исследования // Биохимические методы в физиологии растений / Под ред. О.А. Павлиновой. М.: Наука, 1971. С. 185-197.

2. Хишова О. М., Бузук Г. Н. Количественное определение процианидинов плодов боярышника //Химико-фармацевтический журнал. 2006. Т. 40. №. 2. С. 20-21.

3. Gunes G., Liu R.H., Watkins C.B. Controlled-atmosphere effects on postharvest quality and antioxidant activity of cranberry fruits // J. Agric. Food Chem. 2002. V. 50, №21. P. 5932-5938.

### **ВЛИЯНИЕ СРОКОВ ЯРОВИЗАЦИИ *IN VITRO* НА ВЕГЕТАЦИЮ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ И ТРИТИКАЛЕ В УСЛОВИЯХ ФИТОТРОННО-ТЕПЛИЧНОГО КОМПЛЕКСА**

**Сайфетдинов Е.А., Ткаченко О.В., Рязанцев Н.В.**

**ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова» (ФГБОУ ВО Вавиловский университет),  
Саратов, 410012, пр-кт им. П. Столыпина, зд. 4, стр. 3;  
E-mail: dizareli@yandex.ru**

Ускорение селекционного процесса на основе методов «Speed Breeding» позволяет создавать сорта сельскохозяйственных культур в более короткие сроки. По сравнению с классической селекцией технология «Speed Breeding» позволяет за год получить до 5 репродукций яровых культур [2].

Озимым культурам для перехода к генеративной стадии развития требуется яровизация продолжительностью для пшеницы 30-45 суток [1], для тритикале 55-75 суток [4]. Дополнительное сокращение периода вегетации может быть достигнуто яровизацией растений, полученных из зародышей и культивируемых *in vitro* (метод «Embryo culture»).

В лаборатории генетики и биотехнологии растений ФГБОУ ВО Вавиловский университет ведутся исследования по ускорению выращивания сортообразцов озимой пшеницы и тритикале на основе сочетания технологии «Speed Breeding» и «Embryo culture». Целью данного исследования являлось определение оптимальной продолжительности яровизации *in vitro* на вегетацию озимой пшеницы и тритикале в условиях фитотронно-тепличного комплекса.

В качестве материала для исследований использовали 4 генотипа озимой пшеницы и 8 генотипов тритикале, из которых 4 предположительно являются двуручками. Зародыши вычленили и культивировали на питательной среде Мурасиге-Скуга 14 суток. Растения яровизировали при температуре +4 °С в течение 20, 30, 40, 50 или 60 суток, а затем высаживали в гидропонную систему в фитотронно-тепличный комплекс. Общую продолжительность генерации учитывали, как период от посадки зародышей на питательную среду, *in vitro* яровизации, высадки в гидропонную установку до формирования зародышей, пригодных для вычленения и культивирования *in vitro*, на 18 сутки после опыления. Отмечали продолжительность наступления фенологических фаз,

общую и продуктивную кустистость, массу зерна с колоса и растения, а также измеряли морфометрические параметры побегов.

В процессе исследований было установлено, что для двух из четырех генотипов озимой пшеницы продолжительность *in vitro*-яровизации составляла не менее 50 суток. В то же время для сорта Новоеершовская колошение 50% растений наблюдалось после 40 суток яровизации, а для сорта Скипетр – только после 60 суток. Общая продолжительность генерации составляла 145-167 суток. У растений после 50 и 60 суток яровизации продуктивная кустистость и масса зерна с колоса достоверно не различались. Формировалось от 24 до 40 зерен в колосе.

У озимых форм тритикале период эффективной *in vitro*-яровизации также составлял не менее 50 суток, при этом, устойчивое колошение (более 50% растений) наблюдалась только после 60 суток яровизации. Общая продолжительность генерации составила 150-170 суток. По продуктивной кустистости растения с разным сроком яровизации (50, 60 суток) не различались, но по массе зерна с колоса у двух из четырех генотипов наблюдали достоверное увеличение показателя в вариантах с 60 сутками яровизации. Количество зерен в колосьях составляло от 32 до 60 штук.

У форм тритикале, определяемых как двуручки, колошение наблюдали даже в варианте с 20 сутками яровизации, в том числе у сорта Валентин 90 с частотой 80%. У остальных генотипов яровизация в течение 30-40 суток наблюдалась с частотой более 10-30%. Продолжительность генерации составила для трех из четырех генотипов 150-170 суток, кроме сорта Валентин 90 (130-150 суток). В вариантах с разной продолжительностью яровизации растения не различались по продуктивной кустистости и массе зерна с колоса. В колосьях формировалось 32-60 зерен.

Таким образом, проведенные исследования показали, что для эффективной яровизации растений, полученных из зародышей в культуре *in vitro*, продолжительность периода пониженных температур должна составлять не менее 50 суток, за исключением некоторых сортов-двуручек, таких как Валентин 90, для яровизации которых достаточно 20 суток в данных условиях. Общую продолжительность генерации не удалось снизить менее чем до 150 суток. Условия фитотронно-тепличного комплекса позволили получать более 30 зерен с колоса пшеницы и тритикале.

#### **Список литературы:**

1. Шалин Ю. П. Влияние интенсивности светового потока в период яровизации на продуктивность озимой пшеницы в условиях искусственного климата / Ю. П. Шалин, В. И. Дубовой, А. Ю. Шалин // Селекция и особенности агротехники пшеницы. – 1983. – Вып. 8. – С. 96–99.

2. Schoen A. et al. Reducing the generation time in winter wheat cultivars using speed breeding // Crop Science. – 2023. – Т. 63. – №. 4. – С. 2079-2090.

### **ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА НАКОПЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ КЛЕТОЧНЫМИ КУЛЬТУРАМИ *VACCINIUM VITIS-IDAEA* L.**

**Сёмин А.А., Рыбин Д.А., Сухова А.А., Березина Е.В., Брилкина А.А.**

*Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, 603022, пр. Гагарина, 23;  
E-mail: siom.andrei@yandex.ru*

Брусника обыкновенная (*Vaccinium vitis-idaea* L.) является богатым источником фенольных соединений, обладающих антиоксидантными, противовоспалительными, антибактериальными, противоопухолевыми и гепатопротекторными свойствами. Растительные клеточные культуры являются перспективным источником фенольных соединений благодаря коротким циклам получения целевых метаболитов и возможности контролировать и воздействовать на биосинтез необходимых веществ. Поэтому целью работы являлось определить влияние ряда условий культивирования на накопление фенольных соединений клеточными культурами брусники обыкновенной. Для достижения цели были опробованы несколько концентраций фитогормонов в составе питательной среды, два вида питательных сред, отличающихся по минеральному составу, и темновые и световые условия культивирования.

Объектами исследования являлись каллусные и суспензионные культуры брусники обыкновенной. Каллусные культуры брусники инициировали из молодых листьев растений открытого грунта. Культивирование эксплантов проводили в темноте на твердой питательной среде Андерсона с добавлением ауксина 2,4-Д и цитокинина БАП по 0,45/0,45 мкМ, 2,25/2,25 мкМ или 4,5/4,5 мкМ. На среде с 2,4-Д/БАП в концентрации 2,25/2,25 мкМ и 4,5/4,5 мкМ были успешно получены рыхлые гомогенные каллусные культуры. На среде с 2,4-Д/БАП в концентрации 0,45/0,45 мкМ не удалось получить достаточное количество каллусов, поэтому в дальнейшем их не культивировали.

По окончании пассажа у всех клеточных культур определяли сырую и сухую массу, содержание растворимых фенольных соединений (РФС) (Запрометов, 1971) и флавоноидов (Gunes, Liu, Watkins, 2002). Содержание фенольных соединений после 4 пассажа у каллусов, полученных на средах с 2,4-Д/БАП в концентрации 2,25/2,25 мкМ и 4,5/4,5 мкМ, не отличалось: содержание РФС составило 11 мг/г сухой массы, флавоноидов – около 9 мг/г сухой массы.

Суспензионные культуры инициировали из каллусов в темноте в жидкой питательной среде Андерсона того же гормонального состава. Суспензионные клетки были дезагрегированными и характеризовались большим накоплением РФС: после 4 пассажа содержание РФС составило 55 мг/г сухой массы (в присутствии 2,25/2,25 мкМ 2,4-Д/БАП) - 70 мг/г сухой массы (в присутствии 4,5/4,5 мкМ 2,4-Д/БАП). По содержанию флавоноидов каллусные и суспензионные культуры не отличались.

При дальнейшем пассировании у суспензионных клеток, культивируемых в присутствии 2,25/2,25 мкМ 2,4-Д/БАП, наблюдалось резкое снижение уровня фенольных соединений: так, после 6 пассажа содержание РФС снизилось в 9 раз, флавоноидов – в 3 раза. Кроме того, снизилась жизнеспособность клеток (с 79% до 56%). В то же время у суспензионных клеток, культивируемых в присутствии 4,5/4,5 мкМ 2,4-Д/БАП, уменьшение содержания РФС составило 1,5 раза, а содержание флавоноидов не изменилось, как не изменилась и жизнеспособность (она составила около 65%). Поэтому данную клеточную линию использовали для определения влияния минерального состава среды и условий темнота/свет на накопление фенольных соединений. Для этого часть клеточной линии пересадили со среды Андерсона в более богатую по минеральному составу питательную среду Woody Plant Medium (WPM) с тем же гормональным составом и продолжали выращивать в темноте или на свету (под лампами дневного света с интенсивностью 60 мкмоль квантов/м<sup>2</sup>·с и фотопериодом 16/8 ч).

Перенос суспензионных культур на свет увеличил накопление фенольных соединений, причем максимум содержания РФС (145 мг/г сухой массы) и флавоноидов (124 мг/г сухой массы) был зарегистрирован у клеток в питательной среде WPM. При этом суспензионные клетки, культивируемые именно в среде WPM на свету, сохраняли жизнеспособность на уровне 76%, а в случае других условий культивирования происходило снижение жизнеспособности до 50%.

Таким образом, было показано, что для инициации каллусных культур брусники обыкновенной целесообразно использовать 2,4-Д и БАП в концентрации 2,25/2,25 мкМ и

4,5/4,5 мкМ, а для культивирования суспензионных культур, способных накапливать значительное количество фенольных соединений, целесообразно использовать 2,4-Д и БАП в концентрации 4,5/4,5 мкМ. Увеличению накопления фенольных соединений у суспензионных культур способствует культивирование клеток в среде WPM на свету.

Работа выполнена при поддержке программы стратегического академического лидерства "Приоритет 2030" Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

#### **Список литературы:**

1. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и методы их исследования // Биохимические методы в физиологии растений / Под ред. О.А. Павлиновой. М.: Наука, 1971. С. 185-197.

2. Gunes G., Liu R.H., Watkins C.B. Controlled-atmosphere effects on postharvest quality and antioxidant activity of cranberry fruits // J. Agric. Food Chem. 2002. V. 50, №21. P. 5932-5938.

### **ВЛИЯНИЕ НЕЙТРАЛИЗУЮЩИХ АГЕНТОВ НА МОРФОЛОГИЮ ГРИБА *RHIZOPUS ORYZAE* F-814 И ПРОДУКЦИЮ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ**

**Середа А. А.<sup>1,2</sup>, Суханова А.А.<sup>3</sup>, Ертилецкая Н.Л.<sup>3</sup>, Прокопчук Ю.А.<sup>3</sup>**

**1 – Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР), Москва 117216, E-mail: vilarnii@mail.ru**

**2 – Институт биофизики СО РАН, Федеральный исследовательский центр "Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук" (ИБФ ФИЦ СО РАН), Красноярск 660036, E-mail: fic@ksc.krasn.ru**

**3 – Сибирский государственный университет науки и технологий им. М.Ф. Решетнева (СибГУ им. М.Ф. Решетнева), Красноярск 660037, E-mail: info@sibsau.ru  
E-mail: nensi.sereda@mail.ru**

Из-за присутствия как гидроксильной, так и карбоксильной групп молочная кислота может участвовать в самых разнообразных химических реакциях (этерификация, конденсационная полимеризация, гидратация и замещение), что обеспечивает ее огромный потенциал при использовании в качестве предшественника для целого ряда промышленных продуктов и изготовления потребительских товаров [1].

Сегодня, в условиях постоянно растущего спроса на платформенные химикаты, повышения стоимости сырья и требований к экологичности необходимы эффективные «биосинтезаторы» [2]. Одним из таких «биосинтезаторов» является нитчатый гриб *Rhizopus oryzae*, который способен вырабатывать помимо L-(+)-молочной кислоты – этанол, фумаровую и яблочную кислоты [2,3]. Показатель рН среды имеет важное значение при росте грибов, а также при продукции первичных и вторичных метаболитов [4]. Во время брожения происходит накопление молочной кислоты в среде, что, в результате, приводит к снижению продуктивности продуцента и требует контроля и поддержания рН среды при помощи нейтрализующих агентов [5].

Целью данного исследования являлось исследование влияния различных нейтрализующих агентов на морфологию гриба *R. oryzae* F-814 и продукцию молочной кислоты.

В работе использовали штамм *R. oryzae* ВКПМ F-814, который относится к классу Zygomycetes, порядку Mucorales, семейству Mucoraceae. Для культивирования гриба, мицелий гриба помещали в колбы и инкубировали в шейкере (ES-20, Biosan) при температуре 32 °С, 150 об/мин в течение 72 часов. Морфологию клеток исследовали

методом светлоразнополюсной микроскопии на Микмед-5 (Россия) с системой фотофиксации для измерения толщины гифов с последующей обработкой микрофотографий в программе ImadgeG. Концентрацию глюкозы и молочной кислоты в культуральной среде определяли по стандартным методикам (набор ФКД, FeCl<sub>3</sub>) на спектрофотометре ПЭ-5400, pH в колбах поддерживали внесением Ca(OH)<sub>2</sub>, NaOH, NH<sub>4</sub>OH, CaCO<sub>3</sub>.

Анализ полученных данных выполнен с использованием R Studio (версия 023.09.1+494) и языка программирования R (версия 4.3.2).

Все используемые нейтрализующие агенты по разному влияли на морфологию *R. oryzae* F-814, при использовании NaOH и NH<sub>4</sub>OH мицелий представлял из себя гранулы размером от 4 мм до 10 мм, а использование Ca(OH)<sub>2</sub> и CaCO<sub>3</sub> приводило к формированию крупных гранул и комков от 4 до 14 мм и от 3 до 40 мм, соответственно.

Методом светлоразнополюсной микроскопии было выявлено, что ферментация с NaOH и NH<sub>4</sub>OH приводит к истончению гиф и нарушению их ветвления, в то время как культивирование с использованием щелочного агента Ca(OH)<sub>2</sub>, не привело к изменению толщины гиф. При добавлении в среду CaCO<sub>3</sub> толщина гиф увеличивалась с 3-4 до 10-12 мкм.

Выход молочной кислоты при использовании различных нейтрализующих агентов NaOH, Ca(OH)<sub>2</sub>, NH<sub>4</sub>OH, CaCO<sub>3</sub> для поддержания pH составил 25,7 ± 0,43, 20,1 ± 0,61, 24,7 ± 0,52 и 23,2 ± 0,66 г/л, соответственно.

Производительность *R. oryzae* F-814 при культивировании на средах при использовании NaOH и NH<sub>4</sub>OH значительно не отличалось и составила 0,34 ± 0,02 и 0,36 ± 0,02 г/(л·ч) (p=0,5), степени конверсии углеродного субстрата составили 75,8 ± 2,26 и 68,8 ± 3,72 % p=0,26, соответственно. Применение Ca(OH)<sub>2</sub> привело к незначительному снижению производительности гриба до 0,28 ± 0,02 г/(л·ч) и достоверно отличалось только от уровня при применении NaOH (p=0,03). При использовании CaCO<sub>3</sub> продуктивность составила 0,32 ± 0,07 г/(л·ч), а достоверных различий по сравнению с другими нейтрализаторами выявлено не было (p=0,1). Наиболее высокий расход нейтрализатора был отмечен при использовании NaOH и CaCO<sub>3</sub> — 2,3 ± 0,41 г/(л·ч) и 2,1 ± 0,17 г/(л·ч), а при применении Ca(OH)<sub>2</sub> он составил 1,23 ± 0,3 г/(л·ч), а NH<sub>4</sub>OH 0,67 ± 0,06 г/(л·ч).

В результате полученных данных можно сделать вывод, что нейтрализующий агент может способствовать развитию различной морфологии мицелия, а также влиять на продуктивность *R. oryzae* F-814. Более высокая выработка молочной кислоты наблюдалась при использовании NaOH для поддержания pH.

Исследование поддержано Красноярским краевым фондом науки и предприятием-партнером АО «Сибagro Биотех», заявка № 2023090409806

#### Список литературы:

1. Datta R., Henry M. Lactic acid: recent advances in products, processes and technologies—a review //Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology. – 2006. – Т. 81. – №. 7. – С. 1119-1129.
2. Meussen B. J. et al. Metabolic engineering of *Rhizopus oryzae* for the production of platform chemicals //Applied microbiology and biotechnology. – 2012. – Т. 94. – С. 875-886.
3. Yamane T., Tanaka R. Highly accumulative production of L (+)-lactate from glucose by crystallization fermentation with immobilized *Rhizopus oryzae* //Journal of bioscience and bioengineering. – 2013. – Т. 115. – №. 1. – С. 90-95.
4. Erliana W. et al. Effects of temperature and neutralizing agent on lactic acid production by *Rhizopus* sp. fermentation //AIP Conference Proceedings. – AIP Publishing, 2021. – Т. 2349. – №. 1.
5. Yen H. W. et al. Effects of neutralizing agents on lactic acid production by *Rhizopus oryzae* using sweet potato starch //World Journal of Microbiology and Biotechnology. – 2010. – Т. 26. – С. 437-441.



## ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ШТАММА *STREPTOMYCES TAURICUS* 19/97M НА *TARAXACUM KOK-SAGHYZ*

Стаценко Е.А.<sup>1</sup>, Мартиросян Л.Ю.<sup>1,3</sup>, Гайдашева И.И.<sup>2</sup>, Мартиросян Ю.Ц.<sup>1,3</sup>

1 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550;

E-mail: statsenko.6@gmail.com

2 – ФГАОУ ВПО «Московский политехнический университет» (ФГАОУ ВПО Московский Политех), Москва 107023; E-mail: mospolytech@mospolytech.ru

3 – ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, (ИБХФ РАН) 119334 Россия, г. Москва, ул. Косыгина, 4, levon-agro@mail.ru

E-mail: yana-tukuser@mail.ru

Поиск новых эффективных регуляторов роста биологического происхождения и их применение с целью повышения продуктивности, устойчивости к биотическим и абиотическим факторам стресса растений является актуальной задачей агробиотехнологии. Важную роль в регуляции роста и развития растений *in vitro* играют биологические стимуляторы, полученные из культуральной жидкости микроорганизмов [1]. Они могут оказывать как прямое, так и опосредованное действие на скорость роста и морфогенез растений. Непосредственная стимуляция роста происходит за счёт фитогормонов и улучшения минерального питания растений. Опосредованная стимуляция роста происходит за счёт подавления развития эндо-фитопатогенных грибов и бактерий, угнетающих рост растений. Стимулирование роста и развития растений может осуществляться либо за счёт изменения ризосферы, либо за счёт образования метаболитов, непосредственно улучшающих рост и развитие растения [2]. В этом контексте культуральная жидкость актиномицета *Streptomyces tauricus* 19/97M (*St. tauricus* 19/97M) может быть перспективным источником таких биологически активных веществ (БАВ)[3]. Культуральная жидкость содержит различные метаболиты, такие как фитогормоны, антибиотики, ферменты и другие соединения, которые могут оказывать положительное влияние на растения. Добавление культуральной жидкости в состав питательных сред позволяет повышать эффективность морфогенеза, увеличивать скорость размножения растительного материала, в том числе за счет усиления иммунитета растений и защиты от фитопатогенов из-за присутствия антибиотиков. Добавление БАВ может стимулировать синтез и накопление целевых биомолекул, в том числе натурального каучука и инулина [4]. В ряде исследований было показано, что метаболиты штамма *St. tauricus* 19/97M успешно стимулируют прорастание и всхожесть посевного материала растений разных родов и видов [5]. Целью данной работы является изучение биологической активности метаболитов штамма *St. tauricus* 19/97M на рост и развитие *Taraxacum kok-saghyz* при внесении в питательную среду, в условиях *in vitro*.

Для получения метаболитов использовали штамм актиномицета *St. tauricus* 19/97M. Культуру выращивали глубинно при температуре 28 °С и 150 об/мин на жидкой крахмал-аммиачной питательной среде следующего состава:

Крахмал – 10 г/л

(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 2 г/л;

NaCl – 1 г/л

K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 1 г/л

MgSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O – 1 г/л

pH 7,2 культивационной среды поддерживали с помощью KН<sub>2</sub>РO<sub>4</sub>/NaOH буферного раствора. Отбор культуральной среды осуществляли на шестые сутки культивирования. Полученную суспензию охлаждали до 4 ±1°С и проводили центрифугирование при 3000 об/мин в течение 10 минут. Полученный супернатант

стерильно фильтровали через мембранный фильтр, 0.22 мкм для полного разделения смеси метаболитов культуральной жидкости и биомассы штамма. Исследование биологической активности проводили на культуре изолированных корней с фенотипом *hairy-roots*, листовых эксплантах и семенах *Taraxacum kok-saghyz*. Полученный супернатант вводили в питательную среду Кворина-Лепуавра (QL) без экзогенных фитогормонов, в следующих концентрациях:

- для исследования прироста биомассы изолированных корней: 0,5 %, 1%, 2% и 5%
- для исследования прироста площади листовой пластины регенерантов: 0,5 %, 1%, 2% и 5%.

Для исследования всхожести и прорастания семян обработку проводили водными растворами супернатанта 0,5%, 1%, 1,5% и 10%.

Динамику роста определяли в течении 3-х недель весовым методом, всхожесть и энергию прорастания семян определяли согласно методике ГОСТ 13056.5-76.

Полученные результаты исследования убедительно свидетельствуют, что смесь метаболитов штамма, полученная указанным способом действует как на прирост изолированных корней, так и на прирост наземной части растения. При 1%-ой концентрации культуральной жидкости в питательной среде QL прирост биомассы увеличился на 40% относительно контроля (без добавления культуральной жидкости). Добавление 1% культуральной жидкости в питательную среду к регенерантам без корней увеличила прирост биомассы на 36%, а площадь поверхностей растений увеличилась на 51% относительно контроля. Обработка семян кок-сагыза водным раствором с концентрацией культуральной жидкости штамма 10% увеличил всхожесть и прорастание семян на 60% и 63%, соответственно, относительно контроля.

Результаты показывают, что при увеличении концентрации смесь метаболитов действует как ингибитор ростовых процессов растения. При добавлении культуральной жидкости в количестве 5% в питательную среду, ростовые показатели массы корня и площади листа ингибируются на 30% по сравнению с контролем.

В результате проведенных исследований было установлено, что смесь вторичных метаболитов штамма *St. tauricus* 19/97M, содержащихся в жидкой культуральной среде, после 6 суток культивирования, обладает высокой биологической активностью и может быть рекомендована для применения в биотехнологии растений *in vitro* для увеличения прироста подземных и надземных частей, а также для обработки семян.

#### Список литературы:

1. Галиева Г. Ш., Галицкая П. Ю., Селивановская С. Ю. Растительный микробиом: происхождение, состав и функции // Ученые записки Казанского университета. Серия Естественные науки. – 2023. – Т. 165. – №. 2. – С. 231-262.
2. Cantabella D., Dolcet-Sanjuan R., Teixidó N. Using plant growth-promoting microorganisms (PGPMs) to improve plant development under *in vitro* culture conditions // *Planta*. – 2022. – Т. 255. – №. 6. – С. 117.
3. Штамм актиномицета *Streptomyces lateritius* 19/97-M, используемый для стимулирования роста и защиты сеянцев хвойных от возбудителей болезней, вызываемых грибами родов *Fusarium* и *Alternaria* / Т. И. Громовых, Ю. А. Литовка, В. С. Садыкова. – Патент РФ №.2261902. Опубликовано: 2005.10.10
4. Мартиросян Л.Ю., Мартиросян Ю.Ц., Варфоломеев С. Д., Гольдберг В. М. Способ аэропонного выращивания каучуконосного растения кок-сагыз *Taraxacum kok-saghyz* R. Патент РФ No 2779988. Опубл. 16.09.2022. Бюл. No 26.
5. Третьякова И. Н., Садыкова В. С., Носкова Н.П., Бондарь П.Н., Гайдашева И.И., Громовых Т.И., Иваницкая А.С., Ижболдина М.В., Барсукова А.В. Рост стимулирующая активность штаммов рода *Streptomyces* и *Trichoderma* и перспективы их использования для микрклонального размножения хвойных. Биотехнология. 2009;(1):39-44.

## АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ФИТОГОРМОНОВ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ФЕНОЛЬНОГО СИНТЕЗА У СУСПЕНЗИОННЫХ КЛЕТОК ГОЛУБИКИ ЩИТКОВОЙ

Сухова А.А., Здобнова Т.А., Рыбин Д.А., Сёмин А.А., Березина Е.В., Брилкина А.А.

**ФГАОУ ВО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»  
(ФГАОУ ВО ННГУ им. Лобачевского), Нижний Новгород, 603950, пр. Гагарина, 23;  
E-mail: alinaismailova2000@bk.ru**

Фенольные соединения (ФС) растений – уникальные вторичные метаболиты, синтезирующиеся в основном у растений, а для животных обладающие чрезвычайно широким спектром биологического воздействия. Одними из наиболее эффективных продуцентов фенольных соединений, в первую очередь флавоноидов и проантоцианидинов, являются растения семейства *Ericaceae*, рода *Vaccinium*, и, в частности, *Vaccinium corymbosum* – голубика щитковая. Одним из перспективных и экономически выгодных способов получения вторичных метаболитов являются культуры суспензионных клеток. Контролировать рост культур суспензионных клеток и продукцию ими вторичных метаболитов можно с помощью фитогормонов – ауксинов и цитокининов. Для наибольшей продукции отдельных групп фенольных соединений особенно важно понимать, как фитогормоны могут влиять на гены ферментов фенольного синтеза и их транскрипционные факторы.

Цель работы: выявление влияния различных соотношений ауксина (2,4-Д) и цитокининов (БАП, Кин, иП) на экспрессию генов фенольного синтеза в культурах суспензионных клеток голубики щитковой.

В работе были использованы листья маточных растений *V. corymbosum*, культивируемых в лабораторных условиях (16 часовой фотопериод, 22°C). Суспензионные клетки были инициированы из микрорастений *in vitro* через стадию каллусов и культивировались на среде WPM с концентраций фитогормонов 0,338/0,45; 0,45/0,45 и 2,25/2,25 мкМ 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота) и БАП (бензилоаминопурин)/Кин(кинетин)/иП(изопентиладенин). Для изучения экспрессии генов использовался метод ПЦР в реальном времени, а именно изменение относительной экспрессии рассчитывали по методике:  $RQ=2^{-\Delta Ct}$ . Анализировали экспрессию следующих генов: CHS (халконсинтаза), CHI (халконизомераза) и FHT (флаванон-3β-гидроксилаза) участвуют в путях синтеза флавоноидов, DFR (дигидрофлавонолредуктаза) и LAR (лейкоантоцианидинредуктаза) ферменты, катализирующие синтез катехинов, а MYBPA1 – транскрипционный фактор семейства MYB, обеспечивающий позитивную регуляцию синтеза проантоцианидинов. В качестве референсных генов использовали GAPDH (ГАФДГ), UBQ3b (убиквитин), EF1a (фактор элонгации трансляции).

Проведенный анализ экспрессии генов фенольного синтеза в культурах суспензионных клеток голубики щитковой показал: наиболее активно экспрессируемыми и представленными генами являются CHI и DFR, что свидетельствует об активном синтезе лейкоантоцианидинов, предшественников катехинов и проантоцианидинов. Нами было отмечено, что в большинстве случаев при повышении концентрации фитогормонов экспрессия генов фенольного синтеза снижалась. Замена цитокинина БАП на кинетин или иП чаще всего приводила к снижению уровня экспрессии генов ферментов фенольного синтеза.

Таким образом, в культурах суспензионных клеток голубики щитковой наиболее активно транскрибируются ферменты, отвечающие за синтез катехинов и проантоцианидинов, повышение концентрации фитогормонов и замена цитокинина БАП на Кин и иП негативно сказываются на экспрессии генов ферментов фенольного синтеза.

Работа поддержана грантом РФФ, соглашение 23-24-00403.

### Список литературы:

1. Zifkin M., Jin A., Ozga J., Zaharia I., Scherthner J., Gesell A., Abrams S., Kennedy J., Constabel P. Gene Expression and Metabolite Profiling of Developing Highbush Blueberry Fruit Indicates Transcriptional Regulation of Flavonoid Metabolism and Activation of Abscisic Acid Metabolism // *Plant Physiology*. 2012. V.158. I. 1. P.200–224.
2. Rowland L.J., Alkharouf N., Darwish O. et al. Generation and analysis of blueberry transcriptome sequences from leaves, developing fruit, and flower buds from cold acclimation through deacclimation // *BMC Plant Biol*. 2012. V. 12. I.46.
3. Schmittgen T. D., Livak K. J. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method // *Nature Protocols*. 2008. V. 3. P. 1101-1108.

## БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЛУГОВО-ЧЕРНОЗЕМНОЙ ПОЧВЫ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ БИОПРЕПАРАТОВ В УСЛОВИЯХ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Тукмачева Е.В., Шулико Н.Н.

*ФГБНУ «Омский аграрный научный центр»  
(ФГБНУ Омский АНЦ), Омск, 644012;  
E-mail: tukmacheva@anc55.ru*

Взаимодействия между растениями и микроорганизмами играют исключительно важную роль в жизни, питании растений, защите их от патогенов и вредителей, для сельскохозяйственных культур являются мало исследованными в регионе.

Цель опыта заключалась в оценке влияния биологических препаратов ассоциативной азотфиксации на микробиологическую активность почвы. В полевом опыте было исследовано влияние биопрепаратов Мизорин и Флавобактерин, (производство ВНИСХМ, г. Санкт-Петербург, Пушкин) на микробный ценоз ризосферы новых сортов мягкой пшеницы омской селекции. Отбор проб ризосферы проводили в фазы развития растений: кущение, колошение, наливание зерна.

Биологическую активность почвы определяли по численности эколого-трофических групп микроорганизмов на селективных питательных средах, посев глубинный [1].

Анализ ризосферной микрофлоры пшеницы мягкой посеянной на лугово-черноземной почве на опытных полях Омского АНЦ в южной лесостепной зоне выявил неоднозначную ее реакцию на изучаемый агроприем. Общая численность сапротрофных бактерий, в т.ч. аммонификаторов на мясо-пептонном агаре составляла в контрольных вариантах мягкой пшеницы 11,4-15,8 млн КОЕ/г абс. сух. почвы. Применение биопрепаратов в посевах мягкой пшеницы приводило к росту тестируемых микроорганизмов, с максимальным их количеством в прикорневой зоне пшеницы сортов Омская 44 и Тарская 12 (на 17 и 36% выше контроля) в варианте Флавобактерин. Применение Мизорина стимулировало рост микробов на 20% лишь у пшеницы сорта Омская 44.

На численность амилитической микрофлоры (микроорганизмы на КАА) в ризосфере мягкой пшеницы наибольшее положительное влияние оказала интродукция в почву *Flavobacterium* sp., у сортов Тарская 12 и Омская 44 отмечен существенный ( $p < 0,05$ ) рост группы на 54 и 76% относительно контроля, меньшее положительное влияние оказал Мизорин рост составил 10 и 45% (в ризосфере вышеупомянутых сортов). В развитии прикорневой микрофлоры пшеницы сорта Омская 44 существенных изменений от агроприема не выявлено. Аналогично сапротрофным бактериям, численность

амилолитических микроорганизмов в значительной мере возростала - на 18% (Флавобактерин), на 56% (Мизорин).

Количество олигонитрофилов, микроорганизмов, потребляющих азот атмосферы, было наиболее высоким в вариантах с применением биопрепарата Флавобактерин на пшенице Тарская 12 составляя 35,7 млн КОЕ/г (при уровне на контроле 29,1 млн КОЕ/г), при применении препарата Мизорин на пшенице Омская 44, составляя 44,8 млн КОЕ/г при уровне на контроле 34,2 млн КОЕ/г. Стимуляция роста олигонитрофилов при применении инокуляции, видимо, связана с улучшением азотного питания растений за счет фиксации его бактериями из воздуха, в итоге корневая система более мощная, увеличивается потребление азота в ризосфере, что способствует развитию олигонитрофилов, довольствующихся остаточным количеством доступного азота.

Численность фосфатмобилизующих микроорганизмов достоверно возростала при применении Флавобактерина на всех сортах пшеницы, увеличение по отношению к контролю составило от 19 и 86%, с наибольшими значениями у сорта Омская 44 (50,9 млн КОЕ/г при уровне на контроле 27,3 млн КОЕ/г). При предпосевной обработке семян Мизорином отмечена лишь тенденция увеличения тестируемой группы, только в варианте Омская 44 наблюдался их всплеск на 32% относительно контроля. Из литературы известно, что инокуляция ассоциативными diaзотрофами положительно влияет на численность фосфатмобилизующих микроорганизмов и количество подвижного фосфора в ризосфере растений [2].

В вариантах с применением биопрепаратов численность микромицетов в ризосфере мягкой пшеницы сорта Омская 42 и Тарская 12 снижалась в два и более раза сравнении с контролем (доля влияния взаимодействия факторов существенна, АВ=51,6%). Снижение численности микроскопических грибов под влиянием бактериализации семян может быть обусловлено их фунгицидным действием, также данная тенденция может быть результатом конкуренции внесенных микроорганизмов *Flavobacterium* sp. (Флавобактерин), *Arthrobacter mysorens* 7 (Мизорин) с грибной микрофлорой ризосферы.

Количество почвенных микромицетов в ризосфере пшеницы Омская 44 напротив достоверно ( $p < 0,05$ ) возростало в вариантах с инокуляцией семян, на 176%. Увеличение было за счет сапрофитных родов *Penicillium*, *Asergillus*, *Trichoderma* и т.д. Представителей рр. *Aspergillus*, *Penicillium* согласно данным научной литературы, относят к эпифитам, развивающимся исключительно на продуктах жизнедеятельности растения, не причиняя ему вреда [3].

Целлюлозоразрушающие микроорганизмы ризосферы пшеницы Тарская 12 в наибольшей степени были отзывчивы на инокуляцию Мизорином и Флавобактерином, их рост относительно контроля составил 34 и 50% соответственно. У других сортов данной тенденции не наблюдалось, но и негативного влияния не выявлено. Предпосевная обработка семян пшеницы сорта Омская 42 *Flavobacterium* sp. *Arthrobacter mysorens* 7 приводило к снижению тестируемой группы, что может быть связано с особенностями генотипа сорта [4].

В целом, установлено положительное воздействие агроприема на общую (условно) численность ризосферной микрофлоры мягкой и твердой пшеницы. Наиболее отзывчивой на интродукцию в почву микроорганизмов оказалась прикорневая микрофлора мягкой пшеницы Омская 44, рост относительно контроля составил 31 (обработка Мизорином), 42% (обработка Флавобактерином). В меньшей степени увеличивалась численность микроорганизмов ризосферы сорта Омская 42 и Тарская 12 - на 5% (обработка Мизорином), 23 и 28% (обработка Флавобактерином). Проведенная математическая обработка результатов исследований показала, что доля влияния генотипа культуры на прикорневую микрофлору составляет 47,7%, вида биопрепарата 49,3%.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-76-10064, <https://rscf.ru/project/23-76-10064/>.

### Список литературы:

1. Теппер Е.З., Шильникова В.К. Практикум по микробиологии: учебное пособие для вузов; под ред. В.К. Шильниковой. М.: Дрофа, 2004. 256 с.
2. Биологическая активность почвы ризосферы овса посевного (*Hordeum vulgare* L.) при инокуляции семян ассоциативными diaзотрофами / А.А. Божко, Н.А. Поползухина, О.Ф. Хамова [и др.] // Проблемы агрохимии и экологии. 2019. 2:6064. DOI 10.26178/AE.2019.15.54.010.
3. Анализ эффектов совместной инокуляции грибами арбускулярной микоризы и ризобиями на рост и развитие растений гороха *Pisum sativum* L. / И.В. Леппянен, О.Ю. Штарк, О.А. Павлова, А.Д. Бовин, К.А. Иванова, Т.С. Серова, Е.А. Долгих // Сельскохозяйственная биология. 2021. 56 (3):475–486.
4. Рукавицина И.В. Биология и экология возбудителей альтернариоза, фузариоза и гельминтоспориоза пшеницы. Шортанды, 2008. 148 с.

## АКТУАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВВЕДЕНИЯ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* *HYDRANGEA PANICULATA* SIEBOLD

Федоров А. В.<sup>1</sup>, Николаев Н. В.<sup>2</sup>

*1 – ФГБОУ ВО Российский государственный университет народного хозяйства имени В. И. Вернадского (ФГБОУ ВО РГУНХ имени В. И. Вернадского), 143907, Московская область, г. Балашиха, ул. Шоссе Энтузиастов, д. 50, E-mail: udmgarden@mail.ru*

*2 – ФГБОУ ВО Удмуртский государственный аграрный университет (ФГБОУ ВО Удмуртский ГАУ), 426069, г. Ижевск, ул. Студенческая, 11, E-mail: cypripedium@yandex.ru*

Биотехнологические методы размножения при интродукции культур имеют важное значение, для ускорения покрытия потребности в посадочном материале новых культур и сортов. В настоящее время для озеленения парковых зон, скверов и других рекреаций, а также личных садовых участков, все большую популярность набирают неприхотливые красивоцветущие декоративные деревья и кустарники. К числу таковых относятся многие виды и сорта рода Гортензия (*Hydrangea* L.). По данным разных авторов в состав рода входит от 40 до 200 видов, 52 из которых – общепринятые [2, 6]. В климатических условиях Удмуртской Республики гортензия является одним из немногих красивоцветущих кустарников с растущей популярностью. Однако далеко не все виды и сорта этого крупного рода хорошо себя чувствуют в условиях Среднего Предуралья.

В связи с повсеместным высоким спросом посадочного материала данного вида перспективно и актуально выполнять исследования, направленные на повышение коэффициента размножения, приживаемости этой культуры с использованием биотехнологических методов.

В настоящее время для быстрого и эффективного тиражирования ценных генотипов растений широко применяется метод клонального микрорамножения *in vitro*.

Несмотря на то, что первые работы по клональному микроразмножению гортензии были проведены более 30 лет назад, в 1987 году, к настоящему времени в нашей стране суммарное количество исследований остается весьма незначительным [1]. Работы направлены, в первую очередь, на выявление регуляторов роста, повышающих коэффициент размножения микрорастений гортензии. При этом очень малое внимание уделяется особенностям стерилизации эксплантов и адаптации микрорастений к нестерильным условиям.

Цель исследований – изучить особенности клонального микроразмножения *Hydrangea paniculata*, оптимизировать технологию *in vitro* для данного вида. Исследования проводились в 2022-2023 гг. В работе пользовались общепринятыми в практике клонального микроразмножения методами [5].

Для асептического введения в культуру *in vitro* были использованы латеральные и терминальные почки, очищенные от кроющих чешуй зимних побегов гортензии. Для очистки исходного материала от загрязнений и удаления внешней инфекции побеги предварительно отмывали водопроводной водой с добавлением хозяйственного мыла в течение 10-15 минут. Дальнейшую стерилизацию подготовленных эксплантов проводили в стерильных условиях ламинар-бокса, используя несколько вариантов для стерилизации.

В качестве контроля был взят вариант последовательного применения этанола (в концентрации 70 % и экспозиции в 1 минуту) и гипохлорита натрия (в концентрации 10 % и экспозиции в 8 минут), как один из наиболее часто встречающихся вариантов стерилизации плодовых и декоративных культур [3,4].

По результатам серии проведенных исследований было выявлено, что успех введения в культуру тканей в большой степени определяется эффективностью стерилизации.

Как показал сравнительный анализ, действие различных сочетаний стерилизующих агентов было отличным в зависимости от используемого варианта стерилизации. Наиболее удачным вариантом стерилизации исходного материала гортензии метельчатой (тип экспланта – метамеры активно растущих молодых побегов, длиной 0,3-0,5 см) было сочетание 70 %-го этилового спирта (экспозиция 1 минута) и 0,01 %-го раствора сулемы (экспозиция 5 минут). Проведение стерилизации данным способом обеспечивало достаточную стерильность материала – количество стерильных эксплантов, образующих микропобеги достигало 35,0 %.

При этом 40,0 % введенного в стерильную культуру материала гортензии метельчатой не имело видимых признаков инфицированности, но были нежизнеспособными, т.е. дальнейшая регенерация на них не отмечалась. Данный факт объясняется высокой токсичностью сулемы. Так, при доведении времени экспозиции до 8 минут, число нежизнеспособных эксплантов резко возрастает до 95,0 %.

Удачным для применения в стерилизации эксплантов гортензии оказалось сочетание 70%-го этилового спирта (экспозиция 1 минута) и 33 %-го раствора пероксида водорода (экспозиция 8 минут). Выход жизнеспособных эксплантов гортензии метельчатой в данном варианте достигал 30 %.

Совместное применение этилового спирта, растворов гипохлорита натрия и пероксида водорода, а также препарата «Фундазол», в целом, обеспечивало стерилизующий эффект растительного материала несколько ниже по сравнению с другими исследуемыми вариантами.

Несмотря на то, что фунгицид губительно действуют на патогенные микроорганизмы грибной природы, в нашем случае он оказывал токсическое воздействие непосредственно и на сами экспланты. Число нежизнеспособных эксплантов у гортензии метельчатой достигало 35,0-40,0 %.

В результате проведенных исследований были выявлены лучшие комбинации для стерилизации эксплантов гортензии метельчатой: этанол (70 %, экспозиция 1 мин)+пероксид водорода (33 %, экспозиция 8 минут), этанол (70 %, экспозиция 1 мин)+сулема (0,1 %, экспозиция 5 минут).

#### **Список литературы:**

1. Sebastian T. K., Heuser C. W. In vitro propagation of *Hydrangea quercifolia* Bartr. // Sci. Hort. 1987. Vol. 31. P. 303–309. doi: 10.1016/0304- 4238(87)90056-

2. *Hydrangea* // The Plant List [Электронный ресурс]. URL: <http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Hydrangeaceae/Hydrangea/> (Дата обращения: 01.08.2023 г).

3. Ахметова, Л.Р., Крахмалева, И.Л., Молканова, О.И. Биотехнологические методы размножения декоративных сортов представителей рода *Hydrangea* L. // Достижения науки и техники АПК. - 2020. - Т. 34. № 11. С. 79-82.

4. Ахметова, Л.Р., Молканова, О.И. Некоторые аспекты размножения декоративных сортов представителей рода *Hydrangea* L. // Цветоводство: теоретические и практические аспекты. Тезисы Второй Международной научной конференции. - 2020. - С. 4.

5. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: Учеб. пособие.- М.: ФБК-пресс, 1999.- 160 с

6. Мурзабулатова, Ф. К. Биология видов и сортов рода гортензия при интродукции в Башкирском Предуралье: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук: 03.02.01 / Мурзабулатова Фануза Кавиевна. – Уфа, 2021. – 19 с.



**СЕКЦИИ**  
**«ЦИТОЛОГИЯ И ЦИТОГЕНЕТИКА» ,**  
**«ЦИФРОВОЕ ФЕНОТИПИРОВАНИЕ»**

## ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ *AEGILOPS COMOSA*

Гонсалес Франко М.Х., Юркина А.И., Разумова О.В., Дивашук М.Г., Бадаева Е.Д.

**ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт  
сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550;  
E-mail: gonsalesmaida@yandex.ru**

*Aegilops comosa* Sm. in Sibth. & Sm. — это однолетний злак с диплоидным набором хромосом ( $2n=2x=14$ ) и геномом MM. Установлено, что эта форма принимала участие в образовании ряда полиплоидных видов рода *Aegilops*, таких как тетраплоидные *Ae. ovata*, *Ae. columnaris*, *Ae. biuncialis* и *Ae. triaristata* [1, 2].

Нами был секвенирован геном *Aegilops comosa*, в результате биоинформатического анализа репитомов были отобраны 7 тандемных повторов, имеющих гомологию к повторам, найденным нами ранее в геноме *Aegilops crassa* – CL261, CL209, CL18, CL8, CL170, CL3, CL131. Мы использовали флуоресцентную *in situ* гибридизацию (FISH) для локализации этих повторов на хромосомах исследуемого вида. Повторы CL8 и CL60 не показали локализацию. Повторы CL261 были расположены в центромерных регионах 2 пар хромосом, при этом в одной из пар хромосом сигнал был более интенсивным, чем в другой. CL209 показывает одиночный сигнал в плече одной хромосомы. CL18 показал один сигнал, который был локализован на 1 паре хромосом, расположенный в длинном плече близко к центромере.

Повторы CL170 были локализованы в 1 паре хромосом, один сигнал одной хромосомы расположен на длинном плече, а другой на коротком ближе к центромере, на другой хромосоме сигнал расположен только на длинном плече. CL3 показывает очень сильный сигнал близко к теломерной области 2 пар хромосом, в 4 парах хромосом - более слабый сигнал.

Цитогенетический анализ с использованием тандемных повторов в качестве проб помогает лучше определить эволюционные взаимоотношения между различными видами, может быть хорошим способом понять отношения *Ae. comosa* с другими видами *Aegilops* и пшеницей. Работа продолжается.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 24-16-00145.

### Список литературы:

1. Badaeva, E. D., Kotseruba, V. V., Fisenko, A. V., Chikida, N. N., Belousova, M. K., Zhurbenko, P. M., ... & Dragovich, A. Y. (2023). Intraspecific divergence of diploid grass *Aegilops comosa* is associated with structural chromosome changes. *Comparative Cytogenetics*, 17, 75.
2. Molnár I., Vrána J., Burešová V., Cápál P., Farkas A., Darkó É., Cseh A., Kubaláková M., Molnár-Láng M., Doležel J., (2016). Dissecting the U, M, S and C genomes of wild relatives of bread wheat (*Aegilops* spp.) into chromosomes and exploring their synteny with wheat. *The Plant Journal* (2016) 88, 452–467.

# ЦИФРОВОЕ ФЕНОТИПИРОВАНИЕ РАЗМЕРА, ФОРМЫ И ОКРАСКИ ЛИСТЬЕВ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ ДВУХ ВИДОВ БЕРЕЗЫ В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ И НЕДОСТАТКА АЗОТА

Зятева Е.С.<sup>1</sup>, Карунас А.С.<sup>1</sup>, Селиванова Е.В.<sup>1,2</sup>, Лебедев В.Г.<sup>1</sup>, Шестибратов К.А.<sup>1</sup>

*1 – Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Государственного научного центра Института биоорганической химии им.  
академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова*

*Российской академии наук (Филиал ГНЦ ИБХ РАН), Пущино 142290;  
E-mail: liza\_zyateva@mail.ru*

*2 – Пущинский филиал Федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования «Российский биотехнологический  
университет» (ФГБОУ ВО РОСБИОТЕХ), Пущино 142290*

Глобальное изменение климата увеличивает продолжительность и частоту периодов засухи, что отрицательно сказывается на лесных насаждениях. Повышение концентрации CO<sub>2</sub> в атмосфере усиливает лимитирующую роль азота для роста деревьев. Лист является основным органом фотосинтеза, определяющим рост растений [1]. Размер и форма листьев находятся не только под генетическим контролем, но и зависят от факторов окружающей среды [2], а окраска напрямую связана с содержанием хлорофилла. Для изучения влияния генотипа, водного стресса и дефицита азота на размер, форму и окраску листьев березы применяли метод цифрового фенотипирования. В работе использовали три генотипа березы пушистой (*Betula pubescens*) – бп3ф1, бп4а и трансгенный клон F14GS8b с геном глутаминсинтетазы сосны *GS1* [3], а также два генотипа березы повислой (*B.pendula*) – бб4б и бб31. Микроразмноженные растения выращивали в теплице в пяти вариантах: подкормка азотом в сочетании с поливом (1), умеренной (2) или сильной засухой (3); без подкормки азота с поливом (4) или умеренной засухой (5). После 30 дней засухи и 10 дней восстановительного полива с 4 растений каждого генотипа в каждом варианте собирали по 4 листа, которые затем сканировали. Изображения использовали для определения с помощью программы LAMINA (Leaf shape determination) [4] размеров (площадь, длина, ширина и их соотношение) и формы листьев (округлость, вертикальная и горизонтальная симметрии). Листья березы повислой была мельче листьев березы пушистой за счет уменьшения линейных размеров. Площадь листьев трансгенного клона снизилась относительно исходного генотипа бп3ф1 из-за уменьшения ширины, но не длины листа. По соотношению длина:ширина листа клона F14GS8b превосходили все остальные генотипы. Листья березы повислой имели менее округлую форму, чем у березы пушистой. Горизонтальная симметрия была максимальной у генотипа бп4а и минимальной – у генотипов березы повислой. Воздействие сильной засухи и недостатка азота увеличивало площадь листьев, но различия были существенными только у генотипа березы повислой бб4б. Анализ окраски листьев с помощью системы цветковых координат L\*a\*b\* выявил различия между растениями березы, выращенными в условиях обеспеченности и недостатка азота. Полученные результаты улучшают наше понимание функционирования листового аппарата древесных растений в условиях абиотических стрессов.

Работа была поддержана Российским научным фондом (грант № 22-64-00036).

## Список литературы:

1. Zhang L., Du J., Ge X., Cao D., Hu J. Leaf size development differences and comparative transcriptome analyses of two poplar genotypes. *Genes*. 2021. 12:1775.
2. Dkhar J., Pareek A. What determines a leaf's shape? *EvoDevo*. 2014. 5:47.

3. Bylesjö M., Segura V., Soolanayakanahally R.Y., Rae A.M., Trygg J., Gustafsson P., Jansson S., Street N.R. LAMINA: a tool for rapid quantification of leaf size and shape parameters. BMC Plant Biol. 2008. 8:82.

4. Лебедев В.Г., Шестибратов К.А., Шадрин Т.Е., Булатова И.В., Абрамочкин Д.Г., Мирошников А.И. Ко-трансформация осины и березы тремя областями Т-ДНК, находящимися на двух различных репликациях в одном штамме *Agrobacterium tumefaciens*. Генетика. 2010. 46:1458-1466.

## **СОЗДАНИЕ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ДЛЯ БЫСТРОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ХРОМОСОМ ЦИТРУСОВ С ПОМОЩЬЮ OLIGO-FISH**

**Романов Д.В.\*, Смотров Ю.Н., Коробкова В.А., Разумова О.В., Александров О.С.,  
Монахос М.Г., Дивашук М.Г.**

*ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Лаборатория прикладной геномики и частной селекции сельскохозяйственных растений, Курчатовский геномный центр – ВНИИСБ, 127550, Москва, ул. Тимирязевская, д.42.  
\*E-mail: akabos1987@gmail.com*

Плоды цитрусовых имеют высокие вкусовые, диетические и пищевые качества, несвойственные ни одной другой плодовой культуре. Плоды растений рода *Citrus* - важный источник витамина С [1], однако их пищевая ценность не исчерпывается этим компонентом. В плодах цитрусовых содержатся витамины А, В1, В2, Р, каротин, 32 гликозида (понцирин, нарингин, гесперидин, цитронин, нарингенин, рутиноид, диосмин, лимонитрин, цитромитин, танжеридин и др.), обладающие свойствами Р-активных веществ (флавоноиды), сахара, органические кислоты, пектиновые вещества, минеральные соли, эфирные масла и в семенах - масло. Современные эпидемиологические исследования указывают также на связь между потреблением в пищу цитрусовых и предотвращением развития хронических заболеваний, в том числе болезней сердечно-сосудистых заболеваний, неврологической недостаточности, рака, катаракты и остеопороз [2]. Цитрусовые входят в число основных сельскохозяйственных культур мира.

В настоящее время нет единого мнения о классификации цитрусов. Разные ученые выделяли разное количество видов. По системе Свингла (1943 г.) род *Citrus* состоит всего из 16 видов, разделенных на разновидности, сорта и гибриды. По системе Танаки (1954 г.) в роде *Citrus* идентифицировано 159 видов. В 2020 году Оллитро, Курк и Крюгер предложили новую таксономическую систему с целью согласования традиционных систем с новыми данными. Эта система была сосредоточена на видах, являющихся предками большинства коммерческих гибридов и разновидностей, и другие цитрусы были охарактеризованы как гибриды предковых форм. Однако Оллитро, Курк и Крюгер признали, что на сегодняшний день недостаточно данных для характеристики всех цитрусов по их системе [3]. Таким образом, до сих пор систематика цитрусов является довольно сложной, ученые еще не пришли к единой таксономической системе.

Что касается цитогенетических маркеров на хромосомы растений рода Цитрус, то это направление практически не развито. Группа ученых под руководством Andrea Pedrosa-Narand гибридизовали несколько ВАС-клонов и рДНК на хромосомы *Citrus maxima*, *C. medica*, *C. reticulata* и *Poncirus trifoliata* [4] для нахождения гомеологичных хромосом этих растений и прослеживания их эволюции. Группа ученых под руководством Guolu Liang гибридизовали 3 тандемных повтора и рДНК вместе с центромероподобным и теломерным повтором на хромосомы *C. sinensis*, *C. clementina* и гибрид *Carrizo citrange* [5, 6] для идентификации хромосом, однако такого количества повторов недостаточно для

однозначного различения хромосом указанных видов, и некоторые хромосомы приходилось кариотипировать по длине и центромерному индексу, что очень неточно и недостаточно для некоторых целей.

Для более точной идентификации хромосом и конкретных регионов хромосом, на многих видах сельскохозяйственно-важных растений разрабатывается большое количество цитогенетических маркеров. Благодаря им удается не только безошибочно определить интересующую хромосому, различить плечи метацентрических хромосом, но и найти определенную область хромосомы, понять пути эволюции и обнаружить хромосомные перестройки [7-8].

В ходе нашей работы нами были получены цитогенетические маркеры для идентификации геномов, отдельных хромосом и участков хромосом изучаемых растений рода Цитрус. Эти маркеры были гибридизованы на митотические метафазные хромосомы цитрусов с помощью oligo-FISH. Полученные знания помогут в понимании эволюции и уточнении систематики цитрусов, а также в проведении селекционной работы по созданию новых хозяйственно-ценных гибридов и по переносу генов хозяйственно-ценных признаков: устойчивости к болезням и вредителям, химического состава, питательной ценности и др., от одних цитрусов к другим сельскохозяйственно-важным представителям цитрусов.

Обсуждаются преимущества oligo-FISH в сравнении со стандартным методом гибридизации, а также влияние качества цитологических препаратов на результаты исследования.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 23-16-00234).

#### **Список литературы:**

1. Matheyambath, A. C., Padmanabhan, P., & Paliyath, G. (2016). Citrus fruits.
2. Liu, Y., Heying, E., & Tanumihardjo, S. A. (2012). History, global distribution, and nutritional importance of citrus fruits. *Comprehensive reviews in Food Science and Food safety*, 11(6), 530-545.
3. Ollitrault, Patrick; Curk, Franck; Krueger, Robert (2020). "Citrus taxonomy". In Talon, Manuel; Caruso, Marco; Gmitter, Frederick G. Jr. (eds.). *The Citrus Genus*. Elsevier. pp. 57–81.
4. Costa Silva, S., Mendes, S., Régis, T., Passos, O. S., Soares-Filho, W. S., & Pedrosa-Harand, A. (2019). Cytogenetic map of pummelo and chromosome evolution of true citrus species and the hybrid sweet orange. *Journal of Agricultural Science*, 11(14).
5. Deng, H., Xiang, S., Guo, Q., Jin, W., Cai, Z., & Liang, G. (2019). Molecular cytogenetic analysis of genome-specific repetitive elements in *Citrus clementina* Hort. Ex Tan. and its taxonomic implications. *BMC plant biology*, 19(1), 1-11.
6. Deng, H., Tang, G., Xu, N., Gao, Z., Lin, L., Liang, D., ... & Lv, X. (2020). Integrated karyotypes of diploid and tetraploid Carrizo Citrange (*Citrus sinensis* L. Osbeck × *Poncirus trifoliata* L. Raf.) as determined by sequential multicolor fluorescence in situ hybridization with tandemly repeated DNA sequences. *Frontiers in Plant Science*, 11, 569.
7. Badaeva, E. D., Ruban, A. S., Zoshchuk, S. A., Surzhikov, S. A., Knüpfner, H., & Kilian, B. (2016). Molecular cytogenetic characterization of *Triticum timopheevii* chromosomes provides new insight on genome evolution of *T. zhukovskiyi*. *Plant Systematics and Evolution*, 302(8), 943-956.
8. Cao, H. X., Vu, G. T. H., Wang, W., Appenroth, K. J., Messing, J., & Schubert, I. (2016). The map-based genome sequence of *S. pirodelae* polyrhiza aligned with its chromosomes, a reference for karyotype evolution. *New Phytologist*, 209(1), 354-363.

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЙ ОСВЕЩЕНИЯ С ДОБАВЛЕНИЕМ $\gamma$ -PGA SAP ПЕПТИДА НА МЕЗОСТРУКТУРУ ЛИСТА МЯТЫ ПЕРЕЧНОЙ

Савенко Е.М.<sup>1</sup>, Богоутдинова Л.Р.<sup>2</sup>, Баранова Е.Н.<sup>1,2,3</sup>, Шелепова О.В.<sup>2,3</sup>

1 – ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А.Тимирязева» (ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева), 127434, г. Москва, Тимирязевская ул., д. 49; E-mail: info@timacad.ru

2 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550; E-mail: biotech@iab.ac.ru

3 – ФГБУН «Главный ботанический сад им. Н.В.Цицина Российской академии наук» (ГБС РАН), г. Москва, 127276 Россия, E-mail: lab-physiol@mail.ru

Мята перечная (*Mentha piperita* L.) – многолетнее травянистое лекарственное растение, из свежесобранной надземной массы которых получают эфирное масло (Shelerova, 2022). В Российской Федерации растения мяты выращивают в условиях защищенного грунта, в условиях которого освещение является одним из важнейших факторов, влияющих на продукционный процесс (Paradiso, 2022). Так же для повышения урожайности применяют биостимуляторы.  $\gamma$ -PGA SAP - это полученный путем микробной ферментации полипептид, который использовали на ряде с/х культур (Guo, 2023), но на данный момент информация об использовании  $\gamma$ -PGA SAP при выращивании эфиромасличных культур недостаточно. Целью нашего исследования являлось изучение мезоструктурной организации клеток эпидермиса, столбчатой и губчатой паренхимы клеток листа мяты перечной сорта Ароматное наслаждение при воздействии освещения в сочетании с дополнительным применением  $\gamma$ -PGA SAP.

Растения мяты перечной сорта Ароматное наслаждение выращивали в контейнерах при белом, красном и синем спектре со световым днем 16/8 и температурными условиями 26/22 °С. В контейнерах культивировали по 5 растений мяты, половина из которых на стадии вегетации методом внекорневой подкормки были двукратно обработаны раствором пептида  $\gamma$ -PGA SAP в концентрации  $10^{-4}$ . Для проведения световой микроскопии проводили фиксацию фрагментов листа в 2,5%-ном растворе глутарового альдегида на 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,2) с добавлением 1.5%-ной сахарозы в течение 24 ч. и дофиксировали 1%-ным раствором OsO<sub>4</sub>. Впоследствии образцы обезвоживали и заключали в смесь эпон-аралдитных смол. Площадь клеток определяли с помощью программного обеспечения Cell A. Для каждого варианта было проанализировано не менее 150 клеток каждого типа ткани от 3х независимых проростков.

На полутонких поперечных срезах была изучена мезоструктура листа мяты перечной сорта Ароматное наслаждение в условиях различного освещения. В ходе исследования были показаны изменения площади клеток различных типов тканей листовой пластинки. Так, при синем свете и при обработке пептидом  $\gamma$ -PGA SAP обнаружены наибольшие показатели площади всех изученных типов клеток: верхнего эпидермиса (500 мкм<sup>2</sup>), столбчатого мезофилла (572 мкм<sup>2</sup>), губчатого мезофилла (419 мкм<sup>2</sup>) и нижнего эпидермиса (318 мкм<sup>2</sup>). Наименьшая площадь верхних эпидермальных клеток была найдена у растений, выращенных при красном свете, как с добавлением пептида (290 мкм<sup>2</sup>), так и без него (285 мкм<sup>2</sup>). У растений мяты, культивированных при белом спектре без добавления пептида, выявлена наименьшая площадь клеток столбчатого мезофилла (269 мкм<sup>2</sup>). Наименьшая площадь губчатого мезофилла показана у растений мяты, подверженных красному свету как с пептидом (231 мкм<sup>2</sup>), так и без него (210 мкм<sup>2</sup>). При воздействии красного и белого света без добавления пептида были

обнаружены наименьшие показатели площади клеток нижнего эпидермиса, 166 мкм<sup>2</sup> и 177 мкм<sup>2</sup> соответственно. Выявленные изменения площади клеток тканей листа мяты перечной могут использоваться в качестве цитологических маркеров при изучении стресса.

#### **Список литературы:**

1. Shelepova O.V., Baranova E.N., Tkacheva E.V., Evdokimenkova Y.B, Ivanovskii A.A., Konovalova L.N., Gulevich A.A. Aromatic Plants Metabolic Engineering: A review. *Agronomy*, 2022, 12, 3131. DOI: 10.3390/agronomy12123131

2. Paradiso R., Proietti S. Light-quality manipulation to control plant growth and photomorphogenesis in greenhouse horticulture: The state of the art and the opportunities of modern LED systems. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2022, 41(2), 742-780. DOI: 10.1007/s00344-021-10337-y

3. Guo J., Zhang J., Zhang K., Li S., Zhang, Y. Effect of  $\gamma$ -PGA and  $\gamma$ -PGA SAP on soil microenvironment and the yield of winter wheat. *Plos one*, 2023, 18(7), e0288299. DOI: 10.1371/journal.pone.0288299

## **РАЗРАБОТКА И ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДА ПРИГОТОВЛЕНИЯ ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ РАСТЕНИЙ РОДА *CITRUS***

**Смотровая Ю.Н.\* , Коробкова В.А., Разумова О.В., Монахос М.Г., Романов Д.В.**

***ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Лаборатория прикладной геномики и частной селекции сельскохозяйственных растений, Курчатковский геномный центр – ВНИИСБ, 127550, Москва, ул. Тимирязевская, д.42.  
E-mail: juliksmotrova@gmail.com***

Цитрусовые (*Citrus* spp.) – широко распространенная и коммерчески значимая плодовая культура, культивируемая в более чем 140 странах и регионах в основном в тропиках и субтропиках. Потребление свежих апельсинов в России в сезоне 2022/23 оценивается в 518 тыс. тонн, танжерин/мандаринов — 885 тыс. тонн, грейпфрутов — 50 тыс. тонн, лимонов/лаймов — 229 тыс. тонн. Россия также является основным рынком для импорта цитрусовых из некоторых стран. Плоды цитрусовых отличаются богатым вкусом, разнообразием сортов и высоким содержанием витаминов, что делает их популярными среди потребителей. Они являются богатыми источниками витамина С, флавоноидов, клетчатки и других антиоксидантов. Научные исследования показывают, что регулярное потребление цитрусовых может способствовать укреплению иммунной системы, снижению уровня холестерина и уменьшению риска сердечно-сосудистых заболеваний.

Каждый вид рода *Citrus* имеет характерный кариотип, который представляет собой высочайший уровень структурной и функциональной организации генома. Кариотипические особенности значительно облегчили таксономические и систематические исследования, а также дали важное представление об оценке размера генома и о структуре и организации генома на хромосомном уровне у многочисленных видов растений [1]. Нынешняя хаотичная таксономия цитрусовых, основанная на давних, противоречивых предложениях требует основательной переформулировки в соответствии с полным пониманием гибридной и/или смешанной природы культивируемых видов цитрусовых [2].

Кариотипы могут дать ценную информацию о высочайшем уровне структурной и функциональной организации хромосом, которые являются основными носителями генетического материала в ядрах каждой эукариотической клетки. Чем ближе виды, тем

больше у них сходных кариотипов. В совокупности кариотип может предоставить прекрасную возможность для таксономического и филогенетического анализа. В последнее время картирование повторяющихся ДНК методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) было успешно применено во многих исследованиях кариотипов, особенно при рассмотрении родственных видов [3].

Знания о физическом положении генов на хромосомах позволяют прогнозировать возможности их переноса от одного генотипа к другому, определять размеры селекционной популяции, время и экономические затраты на получение нужных форм. Учитывая ценность цитрусов как пищевых и витаминных растений как сырья для фармацевтической индустрии, являются актуальными расширенные исследования по изучению их геномов.

В ходе данной работы были приготовлены цитологические препараты метафазных хромосом изучаемых растений рода *Citrus* по разработанной нами методике. Обсуждается методика и, в частности, влияние различных факторов на последовательных этапах приготовления на качество препаратов. Хромосомы митотических метафазных клеток были исследованы под фазово-контрастным микроскопом, и хромосомы хорошего качества на стадии метафазы были отобраны для дальнейших экспериментов FISH.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 23-16-00234).

#### **Список литературы:**

1. Deng H. et al. Integrated karyotypes of diploid and tetraploid Carrizo Citrange (*Citrus sinensis* L. Osbeck × *Poncirus trifoliata* L. Raf.) as determined by sequential multicolor fluorescence *in situ* hybridization with tandemly repeated DNA sequences // *Frontiers in Plant Science*. – 2020. – Т. 11. – С. 569.

2. Wu G. A. et al. Genomics of the origin and evolution of *Citrus* // *Nature*. – 2018. – Т. 554. – №. 7692. – С. 311-316.

Deng H. et al. Molecular cytogenetic analysis of genome-specific repetitive elements in *Citrus clementina* Hort. Ex Tan. and its taxonomic implications // *BMC plant biology*. – 2019. – Т. 19. – С. 1-11.

### **РАЗРАБОТКА ПЛАТФОРМЫ ДЛЯ ОБРАБОТКИ И ВИЗУАЛИЗАЦИИ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ДАННЫХ**

**Ульянов Д.Ю., Ульянова А.А., Литвинов Д.Ю., Кочешкова А.А., Съедина Н.М.,  
Карлов Г.И., Дивашук М.Г.**

***ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной  
биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва  
E-mail: uldas1508@gmail.com***

Недавние достижения в области высокопроизводительного фенотипирования растений (ВПФР) превзошли традиционные методы, что привело к проведению междисциплинарных исследований в области сельского хозяйства и инженерии. Инструменты ВПФР облегчают сбор обширных данных за счет неразрушающего отбора проб от сотен до тысяч растений в контролируемых и в полевых условиях. Такой большой объем данных повышает статистическую эффективность, особенно при анализе временных рядов.

Однако разнообразие типов данных — морфологическая, физиологическая и генетическая информация о различных сортах растений, генотипах и способах обработки — требуют надежных аналитических методов, таких как ANOVA и алгоритмы машинного



обучения. Автоматизированные инструменты, включая технологии визуализации и программное обеспечение для обработки данных, необходимы для эффективного управления большими объемами данных.

Нами был разработан инструмент StatFaRmer, функционал которого включает следующее:

1. Предварительная обработка данных: кластеризация временных меток с использованием метода DBSCAN, фильтрация выбросов в пределах кластеров по критерию 3-сигма, преобразование процентов с помощью логит-функции и объединение таблиц данных для дальнейшего анализа.

2. ANOVA-анализ: программа автоматически включает все факторы ANOVA и их взаимодействия до трёхфакторного уровня. Функция Tukey позволяет определить, какие различия в группах можно признать значимыми и позволяет определить величину эффекта.

3. `dbscan_cluster`: эта переменная служит заменой для исходных данных временных меток, позволяя избавляться от псевдоповторностей и проводить анализ фасетным методом.

4. Срезы данных: с учетом группирующего фактора, выбранных обработок, сортов и временных кластеров возможно тестирование конкретных гипотез для выбранного признака.

5. Выгрузка таблиц: в приложении StatFaRmer Shiny доступна функция выгрузки всех таблиц описательной статистики и ANOVA после применения фильтров и срезов (через кнопку "Download Full Results").

6. Синтаксис фасетирования: синтаксис фасетирования соответствует принципам формул R. Переменные из списка группирующих факторов можно располагать по обе стороны от знака `~` для создания вертикально или горизонтально различающихся подграфиков.

StatFaRmer поддерживает данные в форматах CSV и XLSX, предлагая надёжные инструменты для фильтрации и анализа. Мы проверили его эффективность на данных различных сельскохозяйственных культур, продемонстрировав возможности визуализации, анализа и статистической оценки различий между генотипами.

Однако стоит отметить, что некоторые виды растений могут требовать доработки алгоритмов обработки для более точных результатов. В рамках развития инструмента планируется сосредоточиться на интеграции дополнительных статистических методов для расширения аналитических возможностей, включая современный анализ временных рядов со смешанными моделями и совместным анализом разных типов данных [1–3]. Это, в совокупности с имеющимися наработками, позволит исследователям получить доступ к современным методам статистического анализа данных ВПФР без необходимости осваивать программирование. StatFaRmer доступен на Windows и Linux, что обеспечивает его широкую доступность для исследователей (<https://github.com/Stathmin/StatFaRmer>).

Работа выполнена при финансовой поддержке государственного задания № FGUM-2022-0008

#### **Список литературы:**

1. Fuzzy Clustering of Maize Plant-Height Patterns Using Time Series of UAV Remote-Sensing Images and Variety Traits / L. Han [и др.] // *Frontiers in Plant Science*. – 2019. – Т. 10.
2. Mixed Models as a Tool for Comparing Groups of Time Series in Plant Sciences / I. Spyroglou [и др.] // *Plants*. – 2021. – Т. 10. – № 2.
3. Multi-Source Data Fusion Improves Time-Series Phenotype Accuracy in Maize under a Field High-Throughput Phenotyping Platform / Y. Li [и др.] // *Plant Phenomics*. – 2023. – Т. 5. – С. 0043.

## ЦИФРОВОЕ ФЕНОТИПИРОВАНИЕ СОИ, ВЫРАЩЕННОЙ ПРИ РАЗНОМ СПЕКТРАЛЬНОМ СОСТАВЕ СВЕТА

Ульянова А.А., Свистунова Н.Ю., Ульянов Д.Ю., Кочешкова А.А., Карлов Г.И.,  
Дивашук М.Г.

*ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт  
сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550  
E-mail: shurf116@gmail.com*

Растения развили сложные светочувствительные механизмы, которые повышают эффективность фотосинтеза и адаптивность на протяжении всей своей жизни. Эти механизмы регулируют биохимические процессы, анатомию и морфологию листьев для оптимизации фотосинтеза. Кроме того, свет функционирует как сигнал окружающей среды, регулирующий фотоморфогенетические реакции и переходы в развитии.

В современном сельском хозяйстве необходимы точные технологии выращивания растений в контролируемых условиях, таких как теплицы. Оптимизация количества (интенсивности и продолжительности) и качества (длины волны) освещения имеет жизненно важное значение для получения максимальной урожайности и повышения качества продукции. Искусственное освещение все чаще используется в дополнение к естественному освещению, особенно в регионах с недостаточной солнечной радиацией, что повышает эффективность фотосинтеза и стабильность урожая.

Качество освещения существенно влияет на продуктивность растений. Например, красный свет имеет решающее значение для развития фотосинтетического аппарата, в то время как синий свет регулирует раскрытие устьиц, высоту растений и выработку хлорофилла. Зеленый свет способствует длительному росту и кратковременной акклиматизации, облегчая фотосинтез в затененных листьях и более глубоких хлоропластах, тем самым повышая общую урожайность и качество урожая [1].

Объектом данного исследования стала соя, так как она часто страдает от внутри- или межвидового взаимного затенения. Затенение увеличивает высоту, но снижает биомассу, содержание хлорофилла и фотосинтез растений сои. Соотношение красного и дальнего красного (R/FR) света часто рассматривается как сигнал затенения [2,3].

В данной работе мы рассмотрели ряд линий сои, контрастные по фенотипическим и генотипическим признакам. Растения выращивались на коротком фотопериоде в шестикратной повторности. Данные о морфологических и спектральных параметрах растений за 17 дней эксперимента были получены с помощью установки для высокопроизводительного цифрового фенотипирования TraitFinder (Phenospex, Нидерланды). Из более 10 измеряемых параметров для анализа были выбраны средняя высота растения и нормализованный вегетационный индекс (Normalized difference vegetation index (NDVI)), дающий представление о доле здоровой зеленой фотосинтезирующей массы у растения. Далее данные были обработаны с помощью открытого инструмента для анализа фенотипических данных StatFaRmer (<https://github.com/Stathmin/StatFaRmer>).

Полученные данные показали, что растения, которые выращивались без Дальнего Красного (ДК) были в среднем ниже растений, выращиваемых с ДК, но разные линии проявили разную реакцию. Данные о средней высоте растения показывают, что весь набор разделился на три условные группы.

Две линии острее всего отреагировали на разницу условий, показав заметную разницу в средней высоте. При этом различие становится заметно уже через два-три дня после начала фенотипирования. NDVI растений, выращиваемых при освещении без ДК выше на всем протяжении эксперимента.

Также, было выделено четыре линии, высота которых слабее меняется от изменения спектрального состава света. У всех этих линий кроме одной различия также заметны со второго-третьего дня. В случае с этими растениями, заметных различий по NDVI замечено не было. Таким образом, наличие дополнительно ДК в спектре освещения практически не мешает жизнедеятельности растения.

Оставшиеся линии показывают довольно небольшие изменения в высоте в зависимости от освещения, и разница становится детектируемой только на 13 день от начала фенотипирования. При этом, одна из этих линий показывает неожиданный тренд: NDVI растений, выращиваемых с добавлением ДК выше других, начиная с 5-6 дня эксперимента и далее до конца.

Эта работа дала нам возможность изучить подробнее дифференциацию линий сои, и их отношение к наличию в освещении некоторой доли дальнего красного, являющегося сигналом затенения. В дальнейшем это облегчит нам работу с данными линиями, предоставив нам возможность предсказания наиболее комфортной плотности посадки растений этих сортов.

Работа выполнена при финансовой поддержке государственного задания № FGUM-2022-0008

#### **Список литературы:**

1. Paradiso R., Proietti S. Light-Quality Manipulation to Control Plant Growth and Photomorphogenesis in Greenhouse Horticulture: The State of the Art and the Opportunities of Modern LED Systems // J Plant Growth Regul. 2022. Vol. 41, № 2. P. 742–780.

2. Landi M. et al. Plasticity of photosynthetic processes and the accumulation of secondary metabolites in plants in response to monochromatic light environments: A review // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics. 2020. Vol. 1861, № 2. P. 148131.

3. Yang F. et al. Low red/far-red ratio as a signal promotes carbon assimilation of soybean seedlings by increasing the photosynthetic capacity // BMC Plant Biol. 2020. Vol. 20, № 1. P. 148.

## **АНАЛИЗ ПОВТОРЯЮЩИХСЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ *DASYPYRUM VILLOSUM***

**Юркина А.И., Ульянов Д.С., Крупин П.Ю., Карлов Г.И., Дивашук М.Г.**

**ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт  
сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550;  
E-mail: aaaaaa3197@gmail.com**

*Dasyphyrum villosum* ( $2n = 2x = 14$ , геном VV) является дикорастущим видом травянистых растений семейства злаков (Poaceae). *D. villosum* относится к третичному генофонду культурной пшеницы и служит источником генов, обеспечивающих устойчивость к различным заболеваниям, включая мучнистую росу и вирус желтой мозаики пшеницы, а также улучшает характеристики качества зерна [1,2,3]. Изучение геномных взаимосвязей между дикорастущими родственниками пшеницы играет ключевую роль в понимании эволюционных механизмов, которые привели к образованию культурных форм рода *Triticum*.

Полногеномная ДНК *D. villosum* W6 21717 была выделена СТАВ-методом в соответствии с протоколом [4] с последующим Illumina-секвенированием. В результате биоинформатического анализа полученных ридов *D. villosum* установлено, что доля репитома составляет 35,6% от числа всех ридов; из них мобильные элементы составляют

33,65%, в том числе 32,47% – ретротранспозоны, 1,18% – ДНК-транспозоны; доля сателлитов составила 1,43%, а генов рибосомальной РНК rDNA – 0,52%.

Доля суперсемейства LTR-ретротранспозонов *Ty3/Gypsy* составила 21,22%, включая такие элементы как *Retand* (11,82%), *Tekay* (7,96%), *CRM* (0,94%), *Athila* (0,46%), *Reina* (0,04%). Представители суперсемейства LTR-ретротранспозонов *Ty1/Copia* встречались с частотой 5,12% и были представлены элементами *Angela* (4,53%), *SIRE* (0,3%), *TAR* (0,19%) и *Ale* (0,1%). Среди ДНК-транспозонов выявлены *CASTA* (1,15%), *Mutator (MuDR)* (0,01%), *PIF/Harbinger* (0,02%).

Также на основе RepeatExplorer2 были выявлены и охарактеризованы девять сателлитных повторов *D. villosum*, которые показали гомологию к опубликованным повторам в базах данных NCBI, встречающихся как среди видов *Triticum* и *Aegilops*, представляющих первичный и вторичный пул, так и среди представители третичного пула – *Elymus*, *Dasyphyrum*, *Hordeum*, *Leymus*, *Secale* и *Thinopyrum*. Один повтор не показал гомологий и таким образом может считаться уникальным для *D. villosum*.

Проведенный анализ позволил качественно и количественно охарактеризовать состав репитома *D. villosum* W6 21717. Выявленные сателлитные повторы могут быть использованы при проведении эволюционных и популяционных исследований видов Пшеницевых путём сравнительного анализа копийности найденных сателлитов с помощью количественной ПЦР и характера их локализации на хромосомах с помощью метода флуоресцентной гибридизации *in situ*.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 24-16-00286.

#### **Список литературы:**

1. De Pace C., Snidaro D., Ciaffi M., Vittori D., Ciofo A., Cenci A., et al. Introgression of *Dasyphyrum villosum* chromatin into common wheat improves grain protein quality. *Euphytica*; 2001;117(1):67–75.

2. Zhang R., Xiong C., Mu H., Yao R., Meng X., Kong L., Xing L., Wu J., Feng Y., Cao A. *Pm67*, a new powdery mildew resistance gene transferred from *Dasyphyrum villosum* chromosome 1V to common wheat (*Triticum aestivum* L.). *The Crop Journal*, 2021;9(4):882-888.

3. Zhang Q., Li Q., Wang X., Wang H., Lang S., Wang Y., Wang S., Chen P., Liu D. Development and characterization of a *Triticum aestivum*–*Haynaldia villosa* translocation line T4VS.4DL conferring resistance to wheat spindle streak mosaic virus. *Euphytica*, 2005;145:317-320.

4. Murray M.G., Thompson W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic acids research*. 1980;8(19):4321–4326.

## **СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АДАПТИВНОСТИ ЯРОВОЙ ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ**

**Юсов В.С., Юсова О.А., Глушаков Д.А.**

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Омский аграрный научный центр»  
(ФГБНУ «Омский АНЦ»), проспект Королева, 26, г. Омск, 644012;  
E-mail: yusov@anc55.ru, yusova@anc55.ru*

Путем применения метода спектрометрии, получают большой объем информации о состоянии растений, который выражается вегетационными индексами. Они рассчитываются путем проведения различных операций с разными световыми каналами и позволяют классифицировать исследуемые объекты по состоянию биомассы [1].

Главным преимуществом применения вегетационных индексов является возможность оценки с их помощью угнетенного состояния растений в режиме реального времени. Современное сельскохозяйственное производство невозможно осуществлять без применения цифровых технологий, что, в свою очередь, требует более совершенной методологической и инструментальной базы информационного обеспечения. Своевременный контроль развития растений требует идентификацию его стрессовых состояний, что в настоящее время основывается на визуальном мониторинге посевов. Для облегчения данной задачи применяется метод спектрометрии [2]. В работе С. А. Ракутько, Е. Н. Ракутько [3] предложено использование вегетационных индексов при осуществлении относительной оценки степени воздействия факторов естественной или искусственной окружающей среды на стабильность развития растений.

Цель исследования – провести сравнительную оценку сортообразцов яровой твердой пшеницы по вегетационным индексам в условиях южной лесостепи Западной Сибири.

Объектом исследований служили сорта яровой твердой пшеницы, включенные в Росреестр селекционных достижений РФ, а также и перспективные линии конкурсного сортоиспытания (созданные в лаборатории селекции яровой твердой пшеницы ФГБНУ «Омский АНЦ»).

Полевые исследования выполнялись в 2021-2023 гг. на базе ФГБНУ «Омский АНЦ». Спектрометрия растений проведена посредством портативного миниспектрометра CI-710, по 38 вегетационным индексам. Портативный миниспектрометр CI-710 работает в следующих режимах измерения: коэффициент отражения (показывает свет, который был отражен или рассеян от образца), коэффициент пропускания (сравнивает свет, прошедший через образец, с не прошедшим светом), режим поглощения, диапазон спектров [4].

Измерения проводились на 10 флаговых листьях каждого сорта в фазах колошения и молочной спелости. Параметры экологической пластичности рассчитывали по S.A. Eberhart, W.A. Russel [5].

Объектом исследований служили сорта яровой твердой пшеницы, включенные в Росреестр селекционных достижений РФ, а также и перспективные линии конкурсного сортоиспытания (созданные в лаборатории селекции яровой твердой пшеницы ФГБНУ «Омский АНЦ»).

Урожайность является ключевым признаком, определяющим эффективность применения всех агротехнологических мероприятий, в том числе возделываемых сортов [6], также немаловажное значение имеет адаптивность сортов [7, 8]. Полевые исследования показали, что урожайность выше средней (2,4 т/га) сформировали образцы: Жемчужина Сибири, Г.14-83-1, Г.12-16-9, Г.12-17-2, Г.15-24-2, Г.15-56-1, Г.16-22-1.

По уровню фенотипической стабильности генотипов (rASV) и индексу стабильности взаимодействия (rYSI) выделяются сорта Жемчужина Сибири, Г.12-17-2. Все вегетационные индексы разделились на 4 группы. В первую группу вошли индексы: CCI, PSRI, SRPI, IAD, PRI, CPHLT, CNDVI, NDVI, ZMI, RENDVI, GM2 имеющие обратную корреляцию с индексами 3 группы: MRESRI, Ctr2, TCARI, NPCI, VREI2, VREI3, MCARI, MDATT, NPQI, Ctr1, WBI. Индексы второй группы: CRI1, CRI2, Lic2, CPHLB, SPAD, G, TVI. Четвертая группа: ARI1, ARI2, VREI1, FRI, SIPI, Lic1, CPHLA, MCARI1, при этом индексы VREI2 и VREI3 (индекс красного края Форгельмана) не коррелируют с индексом VREI1.

Средняя положительная корреляция уровня фенотипической стабильности генотипов (ASV) проявилась с индексами: ZMI, RENDVI, PRI, MCARI1, GM2, GM1, CNDVI ( $r=0,3...0,7$ ). Обратная корреляция наблюдалась с индексами: VREI3, VREI2, Ctr2. С индексом стабильности взаимодействия (YSI) коррелирует только один показатель - PRI. С параметром пластичности  $B_i$  коррелирует положительно NPQI и отрицательно MCARI1. С показателем стабильности  $\sigma_a^2$  положительная корреляция с индексами: ZMI, RENDVI, MCARI1, IAD, GM2, GM1, CPHLT, CNDVI, CCI ( $r=0,3...0,7$ ) и отрицательная с

индексами: VREI3, VREI2, MDATT, Ctr2 ( $r=-0,3...-0,7$ ). Со всеми остальными индексами корреляция не обнаружена.

#### **Выводы.**

В результате проведенных исследований выделены вегетационные индексы, по которым можно определить адаптивные свойства генотипов твердой яровой пшеницы: ZMI, VREI3, VREI2, RENDVI, PRI, MCARI1, GM2, GM1, Ctr2, CNDVI.

#### **Список литературы:**

1. Жарикова Е.П., Григорьев Ян.Ю. Сравнение вегетационных индексов в задачах оценки поверхностей. Научно-техническое творчество аспирантов и студентов. Материалы всероссийской научно-технической конференции студентов и аспирантов. 2018:162-164.
2. Якушев В.П. Дистанционные методы и средства в информационном обеспечении точного земледелия: состояние и перспективы. Применение средств дистанционного зондирования Земли в сельском хозяйстве: материалы II Всероссийской научной конференции с международным участием. 2018:3-11. DOI: 10/25695/agrophisica.2018.2.18484
3. Пат. 2752953 Российская Федерация, А01G7/00. Способ определения стабильности развития растений / С. А. Ракутько, Е. Н. Ракутько; патентообладатель ФГБНУ «Федеральный научный агроинженерный центр ВИМ». № 2020123106; заявл. 13.07.2020; опубл. 11.08.2021, Бюл. № 23. 10 с.
4. Камас, Вашингтон, США [Электронный ресурс]//CI-710sSpectraVue Листовой спектрометр - CIDBio-Science (cid-inc.com) <https://cid-inc.com/plant-science-tools/leaf-spectroscopy/ci-710-miniature-leaf-spectrometer>. (дата обращения 24.01.2023).
5. Зыкин В.А., Белан И.А., Юсов В.С. Экологическая пластичность сельскохозяйственных растений (методика и оценка). Уфа. 2011:97.
6. Поползухин П.В., Николаев П.Н., Аниськов Н.И., Юсова О.А., Сафонова И.В., Быков С.А. Агробиологическая характеристика кормового сорта ярового ячменя Саша. Достижения науки и техники АПК. 2019.33(1):27-29.
7. Евдокимов М.Г., Юсов В.С. Зависимость урожайности яровой твердой пшеницы и ее компонентов от метеофакторов в условиях лесостепной зоны Западной Сибири. Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. 2005.1:10-12.
8. Кирьякова М.Н., Юсов В.С., Евдокимов М.Г. Оценка адаптивной способности и взаимодействий генотипа и среды перспективных линий яровой твердой пшеницы в условиях Омской области. Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). 2022.2(63):19-25.

## **ПРИМЕНЕНИЕ РАМ-ФЛУОРИМЕТРИИ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПРОДУКТИВНОСТИ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ**

**Юсова О.А., Николаев П.Н., Глушаков Д.А.**

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Омский аграрный научный центр» (ФГБНУ «Омский АНЦ»),  
проспект Королева, 26, г. Омск, 644012;  
E-mail: yusova@anc55.ru, nikolaev@anc55.ru*

РАМ-флуориметрия широко применяется для фиксации и диагностики параметров флуоресценции фотосинтезирующих пигментов, участвующих в защитных реакциях, так как сложные органические соединения обладают способностью флуоресцировать при оптическом возбуждении с квантовым выходом. Наличие взаимосвязи между данными

процессами имеет большое значение для практического применения метода флуоресценции хлорофилла [1].

Регуляция энергетического обеспечения биогенеза фотосинтетического аппарата является одной из важных и недостаточно изученных проблем физиологии, биохимии и мембранной биофизики растений, тесно связанной с механизмами взаимодействия внутриклеточных органелл [2]. С использованием метода РАМ-флуориметрии возможна оценка эффективности функционирования переносчиков электронов в тилакоидных мембранах в переходных состояниях темнота-свет [3].

Исследования проведены в полевом опыте южной лесостепи Омской области по интенсивности роста и развития растений нового сорта ярового ячменя Омский. Флуориметрия растений проведена посредством импульсного портативного флуориметра MINI-РАМ-II. Работа прибора MINI-РАМ-II заключается в том, что во время импульсной вспышки света, выход флуоресценции достигает значения, равное тому, которое было бы достигнуто при отсутствии какого-либо фотохимического гашения, максимальной флуоресценции -  $F_m$ . Сравнение этого значения с текущим выходом флуоресценции в свете ( $F_t$ ) и выходом флуоресценции при отсутствии актинического света ( $F_o$ ) дает информацию об эффективности фотохимического выхода и, соответственно, о производительности PSII [4].

Измерения проводились на 10 флаговых листьях в фазах кущения, колошения и молочной спелости.

Урожайность является ключевым признаком, означающим эффективность агрономических приемов, применяемых в течение периода вегетации [5, 6].

Цель исследований – определить ключевые индексы флуоресценции, по которым можно судить о потенциальной урожайности сорта Омский 101.

Для количественной оценки доли энергии возбуждения, которая рассеивается в виде тепла посредством фотопротекторных механизмов, используется показатель  $Y(NPQ)$ . Выход всех других нефотохимических потерь определяется параметром  $Y(NO)$ . Параметры выходов фотохимических и нефотохимических потерь тесно взаимосвязаны, так что  $Y(P)+Y(NPQ)+Y(NO)=1$  [7]. Коэффициент  $Y(NPQ)$  прямо пропорционален урожайности у сорта Омский 101 ( $r=0,508$ ).

Согласно данным исследований максимального фотохимического квантового выхода нефотохимического тушения ( $F_v/F_m$ ), стрессовое состояние отмечено у сорта Омский 101 в фазе кущения. Подтверждается стрессовое состояние растений коэффициентом Штерна-Фольмера ( $NPQ$ ), который отражает пропорциональное соотношение между нефотохимическим тушением и концентрацией тушащих центров в антенне [8]. В норме коэффициент  $NPQ$  составляет до 10%, при стрессе возрастает до 50%. В наших исследованиях  $NPQ$  возрастает в процессе вегетации от 1,6% до 59,7%.

Фотохимический квантовый выход нефотохимического тушения на свету ( $Y(NPQ)$ ) прямопропорционален урожайности у сорта ячменя ( $r=0,508$ ).

У сорта Омский 101 повышенное значение по отклику на высокий уровень освещения ( $F_m$ ), что положительно коррелирует с урожайностью ( $r=0,473$ ).

#### **Заключение.**

Таким образом, о потенциальной урожайности сорта ярового ячменя Омский 101 можно судить по следующим индексам флуоресценции:

- отклик на высокий уровень освещения  $F_m$ , ( $r=0,473$ );
- выход флуоресценции в свете  $F_t$ , ( $r=0,446$ );
- доля энергии возбуждения  $Y(NPQ)$ , ( $r=0,508$ );
- выход нефотохимических потерь  $Y(NO)$ , ( $r=0,866$ ).

#### **Список литературы:**

1. Булычев А.А., Верхотуров В.Н., Гуляев Б.А. и др. Современные методы биофизических исследований: Практикум по биофизике. 1999:359.

2. Евдокимова О.В., Кабашникова Л.Ф., Савченко Г.Е. Биогенез фотосинтетического аппарата при ингибировании энергетических процессов в деэтилированных проростках ячменя (*Hordeum Vulgare* L.). Биологические мембраны. 2013.30(1):59. DOI: 10.7868/S0233475513010039/

3. Пшибытко Н.Л., Бачище Т.С., Кабашникова Л.Ф. Влияние повышенной температуры на перенос электронов в хлоропластах ячменя. Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук. 2020.65(2):153-162. DOI: 10.29235/1029-8940-2020-65-2-153-162.

4. Krause G. H., Jahns P. Non-photochemical energy-dissipation determined by chlorophyll fluorescence quenching: characterization and function. *Chlorophyll a Fluorescence: A Signature of Photosynthesis*. Springer. 2004.19:463–495.

5. Юсова О.А., Николаев П.Н. Продуктивность и качество зерна ячменя в условиях южной лесостепи Западной Сибири. Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2016.6(263):13-22.

6. Николаев П.Н., Юсова О.А., Кремпа А.Е. Новые перспективные линии ячменя пивоваренного направления селекции Омского аграрного научного центра. Земледелие. 2022.1:39-43. DOI: 10.24412/0044-39132022-1-39-43

7. Kramer D.M., Johnson G., Kiirats O., Edwards G.E. New Fluorescence Parameters for the Determination of QA Redox State and Excitation Energy Fluxes. *Photosynthesis Res.* 2004.79:209-218.

8. Bilger W., Björkman O. Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*. *Photosynth Res.* 1990.25:173-185.



**СЕКЦИЯ  
«МОБИЛЬНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ ЧЕЛОВЕКА, ЖИВОТНЫХ И РАСТЕНИЙ»**

## АКТИВАЦИЯ МОБИЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ У *N. BENTHAMIANA* МЕТОДОМ VIGS

Болотина А.А.<sup>1,2\*</sup>, Меркулов П.Ю.<sup>1,2</sup>, Казанцев М.Ю.<sup>1,2</sup>, Киров И.В.<sup>1,2</sup>

1 – Московский физико-технический институт, Москва, Россия  
2 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт  
сельскохозяйственной биотехнологии», Москва, Россия  
\* E-mail: boloti.anya@yandex.ru

Одним из перспективных методов для создания таких модификаций является вирус-опосредованный сайленсинг генов (VIGS), который может быть применён для подавления генов, связанных с метилированием ДНК и сайленсингом LTR-ретротранспозонов (LTR-RT) [3]. В ходе нашего исследования с использованием VIGS на модельном растении *N. benthamiana* были решены следующие задачи: создание векторной конструкции на основе вируса TRV, проведение агроинфильтрации листьев и индукция теплового стресса, а также выполнение нанопорового секвенирования внехромосомных кольцевых ДНК (вкДНК).

Основной целью работы было подавление гена *NRPD1*, ключевого компонента системы эпигенетического контроля активности МЭ. Проведённое секвенирование вкДНК позволило обнаружить повышенную активность LTR-ретротранспозонов в ответ на сайленсинг с использованием VIGS и вирусное заражение в условиях теплового стресса. Впервые нами был идентифицирован активный мобильный элемент в геноме *N. benthamiana*, которому было присвоено имя «Smoky».

Таким образом, впервые была проведена оценка эффективности использования VIGS для подавления компонентов систем сайленсинга МЭ на примере *N. benthamiana*. Обнаруженные элементы могут послужить в качестве модельных МЭ для дальнейших исследований, таких как анализ их активации и роли в геноме растений.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №22-64-00076.

### Список литературы:

1. Pappalardo A. M., Ferrito V., Biscotti M. A., Canapa A., Capriglione T. Transposable Elements and Stress in Vertebrates: An Overview // Int J Mol Sci. -- 2021. – Feb 17. – Т. 22, № 4.
2. Deneweth J., Van de Peer Y., Vermeirssen V. J. B. g. Nearby transposable elements impact plant stress gene regulatory networks: a meta-analysis in *A. thaliana* and *S. lycopersicum* // . – 2022. – Т. 23, № 1. – С. 18.
3. Киров I. Toward Transgene-Free Transposon-Mediated Biological Mutagenesis for Plant Breeding //International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Т. 24. – №. 23. – С. 17054.

## РАЗРАБОТКА МЕТОДА ВИРУС-ОПОСРЕДОВАННОЙ АКТИВАЦИИ МОБИЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ *ARABIDOPSIS THALIANA*

Перевозчиков Д.В.<sup>1,2</sup>, Власова А.В.<sup>2,3</sup>, Камараули Е.Д.<sup>2,3</sup>, Киров И.В.<sup>2,3</sup>

1 – ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева» (ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева), Москва 127434;

E-mail: info@rgau-msha.ru

2 – ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)» (ФГАОУ ВО МФТИ НИИ), Долгопрудный 141701;

E-mail: info@mipt.ru

3 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва 127550;

E-mail: biotech@iab.ac.ru

Мобильные элементы (МЭ) занимают огромную часть в геномах эукариотических организмах, в том числе в растениях. За счет своей транспозиционной активности они способны вызывать генетические и, как следствие, фенотипические изменения. Несмотря на несомненную важность мобилома, инструментов, позволяющих изучать МЭ, остается немного. Поэтому изучение и понимание закономерностей и условий активации МЭ является актуальным вопросом современной биологии.

Большинство вставок МЭ являются вредными или нейтральными, поэтому у растений имеются механизмы сдерживания их активности [1]. Одним из таковых является РНК-зависимое ДНК метилирование (RdDM) [2]. В RdDM задействовано множество различных белков. Например, ДНК-зависимые РНК-полимеразы (Pol IV, Pol V), РНК-зависимые РНК-полимеразы (RDR2, RDR6), метилтрансферазные белки (DRM2) и другие.

Для активации МЭ растений требуется снижение экспрессии генов, кодирующих белки, участвующие в их сдерживании. В качестве инструмента для временного снижения экспрессии был выбран вирус-индуцированный сайленсинг генов (VIGS) [3].

С помощью разработанного нами подхода, основанного на комплексном воздействии на гены-регуляторы МЭ с помощью VIGS и теплового стресса, была продемонстрирована активация мобильных элементов на примере термоиндуцибельного ретротранспозона ONSEN [4] в *Arabidopsis thaliana*. Был установлено, что сайленсинг генов, участвующие в RdDM, по-разному влияет на активацию ONSEN в соматических тканях. Помимо этого была детектирована внехромосомная линейная ДНК с помощью метода SIRT (Sequence Independent Retrotransposon Trapping), что является показателем транскрипционной и возможной транспозиционной активности ретротранспозона ONSEN.

Таким образом, разработанный нами подход представляет новый безтрансгенный инструмент для активации мобильных элементов.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-64-00076.

### Список литературы:

1. Almojil, D.; Bourgeois, Y.; Falis, M.; Hariyani, I.; Wilcox, J.; Boissinot, S. The Structural, Functional and Evolutionary Impact of Transposable Elements in Eukaryotes. *Genes* 2021, 12, 918.

2. Matzke M. A., Kanno T., Matzke A. J. M. RNA-directed DNA methylation: the evolution of a complex epigenetic pathway in flowering plants // *Annual review of plant biology*. – 2015. – V. 66. – P. 243-267.

3. Zulfiqar S. et al. Virus-induced gene silencing (VIGS): a powerful tool for crop improvement and its advancement towards epigenetics //International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – V. 24. – №. 6. – P. 5608

4. Ito H. et al. Evolution of the ONSEN retrotransposon family activated upon heat stress in Brassicaceae //Gene. – 2013. – Т. 518. – №. 2. – С. 256-261.

## МЕТОДЫ АНАЛИЗА ИНСЕРЦИОННОГО МУТАГЕНЕЗА В ПОПУЛЯЦИИ РАСТЕНИЙ *A. THALIANA*

*Серганова М.А.<sup>1,2</sup>, Меркулов П.Ю.<sup>1,1</sup>, Ялтанская А.В.<sup>3</sup>, Киров И.В.<sup>1,2</sup>*

*1 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва*

*2 – Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Россия*

*3 –Российский государственный аграрный университет МСХА имени К. А. Тимирязева*

Индукцированный мутагенез представляет собой один из самых эффективных методов, который активно применяется для идентификации и модификации ключевых генов, отвечающих за агрономически важные признаки растений [1]. В роли агентов для инсерционного мутагенеза могут выступать мобильные элементы (транспозоны), наиболее многочисленным классом из которых выступают ретротранспозоны [2]. Одним из способов достичь наследуемой транспозиции ретротранспозонов является применение стрессовых условий в комбинации с ингибированием систем сайленсинга [3]. Однако методы, используемые для количественной оценки инсерций в получаемых популяциях должны обладать достаточной чувствительностью и экономичностью.

В нашем исследовании мы использовали инсерционный мутагенез для создания популяции растений *A. thaliana* с увеличенным числом копий ретротранспозонов семейства *ONSEN* (M0). Для этого мы применили условия теплового стресса в комбинации с химическими ингибиторами систем сайленсинга транспозонов – зебуларином и альфа-аманитином. Для количественной оценки новых инсерций транспозонов *ONSEN* нами было проведено генотипирование растений M1 с помощью методов Transposon display и qPCR. Полученные результаты позволили впервые сравнить чувствительность данных методов и определить для каждого минимальное количество новых наследуемых инсерций *ONSEN*, возможное для детекции в геноме *A. thaliana*. Кроме того, созданная популяция растений *A. thaliana* предоставит возможность охарактеризовать недавние генетические изменения, вызываемые транспозонами, а использованный комплекс методов впоследствии может быть применён для создания нового генетического ресурса для фундаментальных исследований в области функциональной геномики.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-74-10055.

### **Список литературы:**

1. Chaudhary J., Deshmukh R., Sonah H. Mutagenesis Approaches and Their Role in Crop Improvement // Plants (Basel). – 2019. – Т. 8, № 11.

2. Anna Małolepszy et al. The LORE1 insertion mutant resource // the plant journal. – 2016. – Т. 88, №2.

3. Thieme M. et al. Inhibition of RNA polymerase II allows controlled mobilisation of retrotransposons for plant breeding // Genome Biology. – 2017. – Т. 18. – №. 1. – С. 1-10.